

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202100294** (13) **A2**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2022.02.28**

(51) Int. Cl. **C09B 61/00** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2021.08.31**

---

(54) **СПОСОБ РАЗРАБОТКИ ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА ЭКСТРАГЕНТА ДЛЯ  
ВЫДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДНЫХ АГЛИКОНОВ ИЗ ВОДНОЙ СРЕДЫ**

---

(96) **2021/022 (AZ) 2021.08.31**

(71) Заявитель:  
**ГАРАЕВ ЭЛЬДАР АБДУЛЛА ОГЛЫ;  
НАСИРЛИ ИЛЬКИН УЗЕИР ОГЛЫ  
(AZ)**

(72) Изобретатель:

**Гараев Эльдар Абдулла оглы,  
Мовсумов Исафиль Солтан оглы,  
Насирли Илькин Узеир оглы (AZ)**

(74) Представитель:

**Насирли И.У. (AZ)**

---

(57) Изобретение относится к технологическому процессу (способу) разработки состава экстрагента, состоящей из этилацетат-гексана, для выделения флавоноидных агликонов (флавоноловых и флавононов) и может быть использовано в фармацевтической промышленности для получения лекарственных препаратов, предназначенных для этой цели. Сущность изобретения состоит в том, что для выделения флавоноидных агликонов (флавоноловых и флавононов) разработан оптимальный состав экстрагента, состоящей из этилацетат-гексана, в соотношении 1:1.4, который может полностью заменить высокотоксичный, взрывоопасный и чрезвычайно огнеопасный диэтиловый эфир, применяемый для этой цели. Для подбора оптимального соотношения растворителей этилацетат-гексана в качестве объекта использовали растительное сырье (*Lepidium campestre* L., *Scabiosa georgica* Sulak. и *Dorycnium graecum* L.), содержащее флавоноидные агликоны (флавоноловые агликоны и представители флавононов) и разные соотношения (1:1.0, 1:1.2, 1:1.4, 1:1.7 и 1:2.0) растворителей. Для количественного получения флавоноидных агликонов из растительного сырья использовали этап, где из очищенной водной фазы извлекают агликоны. Для количественного сравнения полученных данных в качестве контрольного экстрагента использовали диэтиловый эфир. Лучшие результаты показали экстрагент этилацетат-гексан в соотношении 1:1.4.

---

**A2**

**202100294**

**202100294**

**A2**

# СПОСОБ РАЗРАБОТКИ ОПТИМАЛЬНОГО СОСТАВА ЭКСТРАГЕНТА ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДНЫХ АГЛИКОНОВ ИЗ ВОДНОЙ СРЕДЫ

Изобретение относится к технологическому процессу, в частности способу разработки состава экстрагента, состоящего из этилацетат-гексана, для выделения флавоноидных агликонов и может быть использовано в фармацевтической промышленности для получения лекарственных препаратов, предназначенных для этой цели.

Флавоноиды занимают особое место среди биологически активных веществ растительного происхождения. Эти вещества наиболее многочисленная (более 8000 веществ) группа растительных полифенолов. Флавоноиды являются природными вторичными метаболитами растений. Они обладают антиоксидантной активностью, антиаллергическими, противовирусными, противовоспалительными, нейропротекторными и антиканцерогенными свойствами. Способность флавоноидов снижать риск развития некоторых хронических заболеваний (сердечно-сосудистых, сахарного диабета типа 2, некоторых видов рака и др.) вызвали огромный интерес специалистов, работающих в фармацевтической промышленности. Флавоноиды присутствуют в растениях в виде агликонов и гликозидов. Агликоны иногда называются генинами и определяют характер биологической активности флавоноидов. Гликозиды это гликолоизированные формы агликонов. Флавоноидные агликоны представляют собой полифенольные соединения и по степени окисленности гетероцикла отличаются флавонолы и флавононы. По химической структуры флавонолы отличаются от флавононов наличием двойной связью между атомами С2 и С3, а также гидроксильной группы в положении С3. Выделено и идентифицировано более 200 флавоноловых агликонов. Наиболее распространенных в природе и изученных флавоноловых агликонов являются кверцетин, кемпферол, мирицетин, изорамнетин, физетин,

рамнетин, гербацетин, госсипетин, морин и др. Относительно флавонолов флавононы менее распространенная группа флавоноидов. Хорошо известными представителями флавононов являются лютеолин, апигенины, акацетин, байкалеин, вогонин, диосметин, скутуллареин, трицин, хризин и др. Многие флавоноидные агликоны обладают высокой биологической активностью и широко применяются в медицине. Например, кверцетин проявляет антимикробную активность, является ингибитором протеинкиназы С, митоген-активируемой протеинкиназы (МАР-киназы), фосфолипазы А<sub>2</sub>, Mg<sup>2+</sup>- АТФ-азы, Ca<sup>2+</sup>-АТФ-азы, обратной транскриптазы, HIV-1-протеиназы, HIV-1-интегразы, влияет на процессы селекции Т-лимфоцитов, ингибирует образование цитотоксичных лимфоцитов, ингибирует агрегацию тромбоцитов. Апигенин ингибирует рост клеток рака щитовидной железы путем подавления фосфорилирования рецептора фактора роста эпидермиса (EGF-R) и митоген-активируемой протеинкиназы (МАР), усиливает экспрессию супрессора опухолей, белка р53, и белка супрессии ретинобластомы Rb [1].

Получение флавоноидов из растительного сырья состоит из следующих этапов: 1. Получают спиртовое или водно-спиртовое извлечение; 2. Полученное извлечение упаривают до водного остатка (при необходимости разбавляют водой); 3. Из водной фазы удаляют неполярные соединения с помощью хлороформа или четыреххлористого углерода; 4. Из очищенной водной фазы извлекают агликоны диэтиловым эфиром, затем последовательно монозиды этилацетатом, биозиды и дигликозиды н-бутанолом [1].

Флавоноидные агликоны (кверцетин, кемпферол, мирицетин, изорамнетин, лютеолина и др.) растворяются в диэтиловом эфире, ацетоне, спиртах и почти не растворяются в бензоле и хлороформе. Очень незначительные агликоны растворяются в хлороформе [1].

Известен способ выделения агликонов из водной фазы с помощью диэтилового эфира. Диэтиловый эфир (*Diethyl ether*) или же этиловый эфир

(CAS 60-29-7) является высокотоксичным, взрывоопасным, чрезвычайно огнеопасным и не удовлетворяет критериям классификации в соответствии с Регламентом (ЕС) № 1272/2008 (CLP - *Classification, Labelling, Packaging*) по классификации, маркировке и упаковке химических веществ и смесей. Регламент CLP характеризует опасности химических веществ и смесей [1].

Применение этилового эфира в качестве экстрагента имеет ряд недостатков: пар тяжелее воздуха и может стелиться по земле; возможно возгорание на расстоянии. В результате вытекания, перемешивания и др. могут образоваться электростатические заряды. Может образовать взрывоопасные перекиси под воздействием света и воздуха. Могут быть причиной самовоспламенения при хранении и взрыве при его перегонке «досуха». Реагирует бурно с галогенами, соединениями серы и окислителями с опасностью пожара и взрыва. Агрессивно в отношении пластиков и резины [2].

Для применения этилового эфира требуются строгие условия: закрытая система, вентиляция, взрывобезопасное электрооборудование и освещение. Нельзя допускать накопление электростатического заряда (напр., заземлением). Не использовать сжатый воздух для заполнения, выпуска или при обращении. Использовать инструменты, не дающие искр. Не допускать контакта с горячими поверхностями. Следует избегать попадания на кожу и в глаза при открытом способе применения [3, 4].

Цель изобретения состоит замена высокотоксичного, взрывоопасного и чрезвычайно огнеопасного этилового эфира на безопасным и малотоксичным составом экстрагента, но при этом обеспечивающей максимальное извлечение флавоноидных агликонов из водной среды, в одной из этапов при получении флавоноидов.

Из нескольких одинаково пригодных растворителей предпочтение отдают менее взрывобезопасному, огнеопасному и менее токсичному.

Задача решена тем, что в качестве экстрагента флавоноидных агликонов используют растворителей этилацетат с гексаном в соотношении 1:1,4.

Сущность изобретения состоит в использовании неядовитого, не взрывоопасного и более доступного экстрагента с составом растворителей этилацетат – гексаном в соотношении 1:1,4, позволяющего получить максимальное количество флавоноидных агликонов из водной среды.

Способ разработки оптимального состава экстрагента выполняется следующим образом:

Объекта для исследования выбрали растения, содержащие представителей флавоноловых агликонов (кемпферол, мирицетин) и представителей флавононов (лютеолин). Для экстрагирования использовали разное соотношения растворителей этилацетат-гексан (по 5 раз) и в качестве контрольного экстрагента применили этиловый эфир (см. примеры 1-3).

*Пример 1.* 1,0 кг воздушно-сухих, измельченных надземных органов *Lepidium campestre* L. экстрагировали 95%-ным  $C_2H_5OH$  в соотношении 1:8, дважды. Через каждые 24 часа экстракты декантировали, объединяли, упаривали в вакууме до 150-200 мл, прибавили 150-200 мл воды, продолжали упаривание до водного остатка. Водный раствор последовательно обрабатывали хлороформом, смесью этилацетат-гексан. Из этилацетат-гексанового извлечения после упаривания и перекристаллизации из водного этанола получили вещество кемпферол [5].

*Пример 2.* 1,0 кг высушенных и измельченных цветочных корзинок *Scabiosa georgica* Sulak., настаивали 80%-ным этанолом дважды. Экстракты объединяли, упаривали до водного остатка и последовательно обрабатывали гексаном, хлороформом, смесью этилацетат-гексан. Из извлечения смесью этилацетат-гексан получили лютеолин [6].

*Пример 3.* 1,0 кг высушенные и измельченные надземные части *Dorycnium graecum* (L.) S e r i n D.C. экстрагировали 80%-ным этанолом при комнатной температуре в течение 24 часов, трижды. Экстракты объединяли,

упаривали до водного остатка и последовательно обрабатывали гексаном, хлороформом, смесью этилацетат-гексан. Из смеси этилацетат-гексан получили мирицетин [7].

Полученные результаты изображены в таблице.

Этилацетат-гексан	Флавоноидные агликоны, мг ( $\pm 0.002$ )		
	кемпферол	лютеолин	мирицетин
1:1.0	0,232	0,174	0,217
1:1.2	0,283	0,192	0,264
1:1.4	0,321	0,214	0,291
1:1.7	0,314	0,205	0,282
1:2.0	0,241	0,165	0,241
Этиловый эфир	0,322	0,218	0,287

Как видно из таблицы, по сравнению с этиловым эфиром лучшие результаты показывает экстрагент этилацетат-гексан в соотношении 1:1,4 (для кемпферола – 0,321 мг, для лютеолина – 0,214 мг, для мирицетина – 0,291 мг на 1 кг сухого сырья), а немного хуже в соотношении 1:1,7. Выход составляет относительно этилацетат-гексан в соотношении 1:1,4: для кемпферола в соотношении 1:1,2 (88%) и 1:1,7 (97,8%), для лютеолина в соотношении 1:1,2 (89,7%) и 1:1,7 (95,7%), а для мирицетина в соотношении 1:1,2 (90,7%) и 1:1,7 (96,9%).

Таким образом, для выделения флавоноидных агликонов из растительного сырья разработан оптимальный состав экстрагента. Для этой цели может быть использован экстрагент, состоящий из этилацетат-гексана в соотношении 1:1,4.

Авторы:

Э.А. Гараев

И.С. Мовсумов

И.У. Насирли

## Литература

1. Макарова М.Н., Макаров В.Г. Молекулярная биология флавоноидов (химия, биохимия, фармакология): Руководство для врачей. СПб., 2010. 428 с.
2. Писарев Д.И., Новиков О.О., Селютин О.А., Писарева Н.А. Биологическая активность полифенолов растительного происхождения. перспектива использования антоцианов в медицинской практике // Серия Медицина. Фармация. 2012. № 10 (129). Выпуск 18/2. С. 17-24.
3. <https://www.safework.ru/content/cards/RUS0355.HTM>. Диэтиловый эфир.
4. Паспорт безопасности в соответствии с Регламентом (ЕС) № 1907/2006 (REACH), с поправками, внесенными 453/2010/ЕС Диэтиловый эфир.
5. Гараев Э.А. Химические компоненты *Scabiosa georgica* Sulak. // Фармация Казахстана, 2011, №3, с. 34-35.
6. Yusifova D.Y., Movsumov I.S., Garaev E.A., Mahiou-Leddert V., Mabrouki F., Herbette G., Baghdikian B., Ollivier E. // Chemistry of Natural Compounds, 2015, Vol.51, No. 5, p.964-965.
7. Movsumov I.S., Yusifova D.Yu., Suleymanov T.A., Garaev E.A. Biologically Active Compounds from *Dorycnium graecum* Growing in Azerbaijan // Chemistry of Natural Compounds, Vol. 56, No. 5, May, 2020, p. 953-954.

## ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ВЕЩЕСТВА И АППАРАТУРА

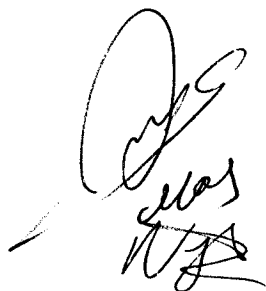
1. Растворители диэтиловый эфир ((Diethyl ether), Uvasol®), этилацетат (Sigma-Aldrich, 99,7 %), н-Гексан ((n-Hexane), Prepsolv®).
2. Делительная воронка
3. Весы Wincom Электрический Аналитический JA303P (макс вес 600 гр)
4. Весы Aoste электрический HS-1002R (макс вес 1002 гр)
5. Спирт этиловый (этанол) C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, Sigma-Aldrich 459836, квалификация 99,5%
6. Колба 5000 мл GG-17, 29/32.
7. Хлороформ EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur 2,5 l



## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ разработки оптимального состава экстрагента, состоящей из этилацетат-гексана, для выделения флавоноидных агликонов из водной среды, включающий то, что указанный состав экстрагента имеет соотношение 1:1,4, который не уступает по экстрагируемой способности диэтиловому эфиру, при этом выход для кемпферола составляет  $0,321 \pm 0,002$  мг, для лютеолина –  $0,214 \pm 0,002$  мг, для мирицетина –  $0,291 \pm 0,002$  мг на 1 кг сухого сырья).

**Авторы:**



**Эльдар Абдулла оглы Гараев**

**Исрафиль Солтан оглы Мовсумов**

**Илькин Узеир оглы Насирли**