

**ЭКСТРАКЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ  
ИЗ ЛИСТЬЕВ ЭВКАЛИПТА ПРУТОВИДНОГО (*EUCALYPTI  
VIMINALIS LABILL*) ДОКРИТИЧЕСКОЙ ВОДОЙ  
И ВОДНО-ЭТАНОЛЬНЫМИ РАСТВОРАМИ**

**<sup>1</sup>Л. В. Павлова\*, <sup>1</sup>И. А. Платонов, <sup>1</sup>Н. В. Никитченко,  
<sup>1</sup>И. Н. Колесниченко, <sup>2</sup>В. А. Куркин**

<sup>1</sup>Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева», Самара, Россия

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, Самара, Россия

\*lora-pavlova@mail.ru

Поступила в редакцию 25.04.2016 г.

Проведена экстракция биологически активных соединений (БАС) из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*) докритической водой в динамическом режиме при температурах 120—200 °С и давлении 5,0 МПа, а также 10, 50 и 70 % растворами этанола в воде при 200 °С и 5,0 МПа. Качественный состав полученных экстрактов исследован методами газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

**К л ю ч е в ы е с л о в а:** докритическая вода, экстракция, биологически активные соединения, эвкалипт прутовидный, дериватизация, среднелетучие органические соединения.

**ВВЕДЕНИЕ**

Эвкалипт прутовидный является самым зимостойким видом эвкалиптов и самым распространенным в субтропических районах черноморского побережья Кавказа и стран СНГ [1], в связи с чем он представляет интерес как самое доступное сырье рода эвкалиптов. Его листья используют для получения эфирного масла, приготовления отваров и этанольных экстрактов традиционными способами, описанными в государственной фармакопее [1, 2]. Кроме прямого использования экстрактов эвкалипта прутовидного и его эфирного масла, широко применяются отдельные компоненты, получаемые из его листьев, — хлорофиллы и фенолоальдегиды, на основе которых изготавливаются препараты хлорофиллипт, галенофиллипт, эвкалимин. Как правило, извлечение хлорофиллов и фенолоальдегидов из растительного сырья связано с использованием 96 % этанола [3—7].

В связи с тем, что интерес к лекарственным средствам растительного происхождения постоянно возрастает, встает вопрос рациональной переработки растительного сырья. Главная, наиболее трудоемкая и продолжительная стадия его промышленной переработки — извлечение биологически активных соединений (БАС). Экстракция БАС с помощью сверхкритического CO<sub>2</sub> является современным и экологически чистым методом переработки растительного сырья, но с его помощью не удастся извлечь фенолоальдегиды из листьев эвкалипта прутовидного [8]. Ис-

пользование воды в докритическом состоянии (перегретая вода под давлением при температурах 100—374 °С) для извлечения БАС из растительного сырья все шире находит применение как более экологичный и экономичный метод по сравнению с экстракцией органическими растворителями [9]. Жидкая вода в субкритическом состоянии (при высоких давлениях и температурах, приближающихся к критической) изменяет свои физико-химические свойства: плотность, вязкость, диэлектрическую проницаемость и по ряду свойств становится подобной органическим растворителям [10], что способствует значительному повышению растворимости в ней органических соединений.

К началу наших исследований авторам не были известны данные об использовании воды в докритическом состоянии и водно-этанольных смесей для извлечения БАС из листьев эвкалипта прутовидного. Нами установлено, что экстракты, полученные в таких условиях, содержат эвкалимин [11]. Более полное изучение химического состава полученных экстрактов позволит определить направления их использования в лечебных целях. Кроме того, представляет интерес уточнение химического состава самого растительного сырья листьев эвкалипта прутовидного. Такие данные, как правило, получают при исследовании содержания среднетлетучих органических соединений (СЛОС) в эфирном масле [8, 12, 13] и в экстрактах, полученных с помощью сверхкритического CO<sub>2</sub> [8], этанола [14] и ацетонитрила [15]. Данные по идентификации БАС листьев эвкалипта прутовидного достаточно разрозненны и неоднозначны. Сравнительный анализ этих источников выявил значительные различия компонентного состава СЛОС экстрактов эвкалипта прутовидного у разных авторов, тогда как экстракты, полученные из одного растительного сырья [8, 14, 15], продемонстрировали в основном различие в соотношении компонентов. Можно назвать лишь несколько СЛОС, которые упоминаются во всех цитированных работах: 1,8-цинеол, 4-терпинеол, аромадендрен, аллоаромадендрен, изоледен.

Задача данной работы состояла в изучении компонентного состава экстрактов листьев эвкалипта прутовидного, полученных с использованием воды при температурах 120, 160 и 200 °С и давлении 5 МПа, а также при экстракции водно-этанольными смесями различного состава при 200 °С и 5 МПа.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования использовался товарный продукт «Листья эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*)» производства ПКФ «Фитофарм» ООО, приобретенный в аптечной сети.

Эксперименты по экстракции докритической водой (ЭСВ) проводили на оригинальной установке, разработанной коллективом авторов [16], в условиях, указанных в таблице 1, в следующем порядке. Исследуемое растительное сырье массой 2,2 г смешивали для предотвращения слеживания с гранулами карбида кремния размером 2·3 (±1) мм до объема 20 см<sup>3</sup>. Полученную пробу помещали в экстрактор. После подключения экстрактора к системе в него по капилляру подавали экстрагент (например, дегазированную дистиллированную воду), герметично закрывали экстрактор и выдерживали 20 мин при давлении 14,0±10,1 МПа. После этого открывали вентиль тонкой регулировки, и экстрагент начинал поступать в систему со скоростью 1,7±0,1 см<sup>3</sup>/мин. Одновременно запускали нагрев термостата, в котором находился обогреваемый капилляр и экстрактор. Давление поддерживали на уровне 5,0±0,1 МПа. С момента выхода системы на заданную температуру в динамическом режиме отбирали фракции экстракта по 5 см<sup>3</sup>. Во всех случаях

Таблица 1

Условия проведения экстрагирования БАС из листьев эвкалипта прутовидного

Экстрагент	Режим экстрагирования	Диапазон температур, °С	Давление, МПа	Условное обозначение экстракта
Вода	Динамический	120	5	ЭВ (120 °С, 5 МПа)**
Вода	Динамический	160	5	ЭВ (160 °С, 5 МПа)
Вода	Динамический	200	5	ЭВ (200 °С, 5 МПа)
Вода:этанол 90:10*	Динамический	200	5	ЭЭ 10 % (200 °С, 5 МПа)***
Вода:этанол 50:50*	Динамический	200	5	ЭЭ 50 % (200 °С, 5 МПа)
Вода:этанол 30:70*	Динамический	200	5	ЭЭ 70 % (200 °С, 5 МПа)

\* Объемное соотношение.  
 \*\* Экстракт водный.  
 \*\*\* Экстракт этанольный.

соблюдалось одинаковое соотношение экстрагента и растительного сырья — 100 см<sup>3</sup> на 2,20 ± 0,05 г.

**Дериватизация** (перевод нелетучих БАС в летучую форму для дальнейшего хроматографического анализа) компонентов полученных экстрактов проводилась по методике, описанной в работе [17]. Во флакон с 20—30 мкг сухого остатка полученных экстрактов добавлялось 40 мкл дериватирующего агента — N,O-бис-(триметилсилил)-трифторацетамида (БСТФА) (Chromatographie Service GmbH, Germany), а затем 40 мкл сухого ацетонитрила. Флакон герметично закупоривался и помещался в термостат при 80 °С на 30 мин. После охлаждения 1 мкл полученной смеси вводилось в испаритель хроматомасс-спектрометра.

**Кислотный гидролиз.** В пробирку со шлифом помещали 2,5 см<sup>3</sup> экстракта, добавляли 0,5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты, закрывали пробкой и выдерживали смесь в термостате при температуре 90 °С в течение 60 мин. Гидролизат остужали до комнатной температуры и доводили 5 М раствором NaOH до pH = 8. Затем проводили 2-кратную экстракцию хлороформом порциями по 1 см<sup>3</sup>. Полученные экстракты объединяли, упаривали досуха и проводили дериватизацию БСТФА по вышеописанной методике. После упаривания хлороформной «вытяжки» из экстракта, полученного с использованием 70 % раствора этанола в воде при 200 °С, для дериватизации брали 0,1 часть сухого остатка, поскольку при его полном использовании при добавлении реактивов получается очень густая смесь.

**Щелочной гидролиз.** В пробирку со шлифом помещали 2,5 см<sup>3</sup> экстракта, добавляли 0,5 см<sup>3</sup> 5 М раствора NaOH, закрывали пробкой и выдерживали смесь в термостате при температуре 60 °С в течение 20 мин. Гидролизат остужали до комнатной температуры и доводили до pH = 3 концентрированной соляной кислотой. Затем проводили 2-кратную экстракцию хлороформом порциями по 1 см<sup>3</sup>. Полученные экстракты объединяли и упаривали до 0,5 см<sup>3</sup> и проводили анализ методом газовой хроматомасс-спектрометрии (ГХ-МС). Затем экстракт упаривали досуха и проводили дериватизацию БСТФА по вышеописанной методике.

**Анализ летучих органических соединений** в экстрактах, полученных экстракцией водой и водно-этанольными растворами, проводили тремя способами:

- 1) анализ непосредственно полученных экстрактов;

2) 3-кратная переэкстракция гексаном порциями по 1 мл из 5 мл полученных экстрактов с последующим анализом гексановой «вытяжки»;

3) трехкратная переэкстракция хлороформом в том же соотношении, как и при экстракции гексаном, с последующим анализом полученной «вытяжки».

**Анализ экстрактов** методом ГХ-МС осуществляли на газовом хроматографе Agilent 7890 GC, совмещенном с масс-селективным детектором 5975C (Agilent Technologies, США) с ионизацией электронным ударом, энергия ионизации — 70 эВ. Разделение проводили на кварцевой капиллярной колонке с малополярной неподвижной фазой HP-5ms 30 м × 0,25 мм с толщиной пленки 0,25 мкм (Agilent, США) при следующем режиме программирования температуры: изотерма 40 °С (5 мин), нагрев до 80 °С со скоростью 2 °С/мин, нагрев до 150 °С со скоростью 7 °С/мин — изотерма 5 мин, нагрев до 250 °С со скоростью 10 °С/мин — изотерма 5 мин, нагрев до 280 °С со скоростью 10 °С/мин — изотерма 5 мин. Температура испарителя 270 °С; делитель потока 1 : 20; скорость газа-носителя гелия 1 мл/мин; температура переходной линии 280 °С; объем пробы 1 мкл.

Полученную дериватизацией сухого остатка полученных экстрактов смесь веществ анализировали в следующих условиях: газ-носитель — гелий, скорость потока в колонке 1 мл/мин. Температурная программа: 100 °С (3 мин), нагрев до 150 °С со скоростью 10,5 °С/мин — изотерма 2 мин, нагрев до 300 °С со скоростью 10 °С/мин — изотерма 8 мин. [17]. Температура инжектора 280 °С, температура переходной линии 280 °С, ионного источника — 200 °С. Объем пробы 1 мкл.

При анализе экстрактов после гидролиза условия разделения были следующими: температура испарителя 280 °С; термостат колонок 50 °С — 5 мин, нагрев до 100 °С со скоростью 15 °С/мин — изотерма 1 мин, нагрев до 300 °С со скоростью 8 °С/мин — изотерма 20 мин. Скорость газа-носителя 1,2 мл/мин. Делитель потока 1:20; объем пробы 1 мкл.

Анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектральным детектированием (ВЭЖХ-МС) проводился на хроматографе Agilent G6230 A LC/MSD TOF. Хроматографическое разделение было выполнено на колонке Luna C<sub>18</sub> (50 × 2,1 мм, зерно 2 мкм, производство «Phenomenex», США). Подвижная фаза состояла из ацетонитрила (А) и 0,5 % муравьиной кислоты (Б). Режим элюирования — градиентный: 0—10 мин — 0—30 % (А) в (Б); 10—14 мин — 30—40 % (А); 14—17 мин — 40—70 % (А) с постоянной скоростью потока 1,5 см<sup>3</sup>/мин. Способ ионизации — электроспрей. Спектр снимался по отрицательным и положительным ионам. Масс-детектирование выполнялось в режиме полного сканирования в диапазоне 120—1700 *m/z*. Точность измерения 1 ppm. Напряжение на капилляре 4000 В. Скимер 65 В. Напряжение фрагментации 175 В. Поток нагретого до 325 °С газа азота 8 дм<sup>3</sup>/мин. Давление потока газа в распылителе 3,1 бар. Идентификация проводилась с использованием программного обеспечения All Ions MS/MS software и библиотеки Agilent MS/MS library.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Из литературы известно, что вода при приближении к критической точке приобретает свойства менее полярного растворителя [9, 10], поэтому можно предположить, что она будет извлекать из растительного сырья более широкий спектр соединений.

Анализ полученных экстрактов листьев эвкалипта прутовидного выявил изменение качественного состава извлекаемых СЛОС в зависимости от использованного экстрагента и температуры экстракции (таблица 2). При анализе продукта

Таблица 2

Компонентный состав экстрактов листьев эвкалипта прутовидного

№	Время удерживания, мин	Идентифицированный компонент экстракта эвкалипта прутовидного	Содержание компонента, %					
			ЭВ (120°C, 5 МПа)	ЭВ (160°C, 5 МПа)	ЭВ (200°C, 5 МПа)	10 % ЭЭ (200°C, 5 МПа)	50 % ЭЭ (200°C, 5 МПа)	70 % ЭЭ (200°C, 5 МПа)
1	2,81	3-метилбутаналь	+	+	+	+	+	+
2	3,38	этановая кислота	+	+	+	+	+	+
3	4,14	пропановая кислота	+	+	+	+	+	+
4	5,13	метил-2-пропеонат	—	—	+	+	+	+
5	6,39	(2Н)-фуранон	—	—	+	+	+	+
6	7,88	3-фуральдегид	—	—	+	+	+	+
7	7,92	2-фуральдегид	—	—	+	+	+	+
8	9,55	3-метилбутановая кислота	+	+	+	+	+	+
9	10,12	фурфуриловый спирт	—	—	+	+	+	+
10	13,19	2(3Н)-дигидрофуранон	—	—	+	+	+	+
11	13,26	α-пинен	—	—	—	—	+	+
12	13,65	дигидрометилфуранон	—	—	+	+	+	+
13	13,75	1,2-циклопентандион	—	—	+	+	+	+
14	15,13	1,1-диэтокси-3-метилбутан	—	—	—	—	—	+
15	15,57	5-метилфурфураль	—	—	+	+	+	+
16	16,06	β-пинен	—	—	—	—	—	+
17	17,28	фенол	+	+	+	+	+	+
18	18,11	α-феландрен	—	—	—	—	+	+
19	18,29	2,4-дигидропиранон	—	—	+	+	—	—
20	19,27	3-метил-2,5-фурандион	—	—	—	—	—	+
21	19,58	n-цимен	+	+	+	+	+	+
22	19,83	лимонен	—	—	—	—	+	+
23	19,98	1,8-цинеол	+	+	+	+	+	+
24	20,89	бензиловый спирт	—	—	+	—	—	—
25	20,92	бензенацетальдегид	—	—	+	+	+	+
26	22,06	γ-терпинен	—	—	—	—	—	+

**Экстракция биологически активных соединений из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*) докритической водой и водно-этанольными растворами**

Продолжение таблицы 2

№	Время удерживания, мин	Идентифицированный компонент экстракта эвкалипта прутовидного	Содержание компонента, %					
			ЭВ (120 °С, 5 МПа)	ЭВ (160 °С, 5 МПа)	ЭВ (200 °С, 5 МПа)	10 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	50 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	70 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)
27	22,58	4-гидрокси-2,5-диметил-3(2Р)-фуранон	—	—	+	+	+	+
28	22,94	линалоол оксид	—	—	—	—	+	+
29	23,81	диэтилпропандиоат	—	—	—	—	—	+
30	24,10	фуранеол	—	—	—	—	+	+
31	24,25	2,3-дигидро-5-гидрокси-6-метил-4Н-пиран-4-он	—	+	+	+	+	+
32	25,83	D-фенкол	+	+	+	+	+	+
33	27,16	пинокарвеол	+	+	+	+	+	+
34	27,41	2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-5-метил-4Н-пиран-4-он	+	+	+	+	+	+
35	27,43	эндоборнеол	+	+	+	+	+	+
36	28,43	борнеол	+	+	+	+	+	+
37	28,54	карвенон	+	+	+	+	+	+
38	28,71	<i>n</i> -мент-4-ен-3-он	+	+	+	+	+	+
39	28,91	4-терпинеол	+	+	+	+	+	+
40	29,27	<i>n</i> -цимен-8-ол	+	+	+	+	+	+
41	29,44	$\alpha$ -терпинеол	+	+	+	+	+	+
42	29,65	миртенол	+	+	+	+	+	+
43	29,83	$\alpha$ -феландрен эпоксид	+	+	+	+	+	+
44	30,27	1,2-бензилдиол	+	+	+	+	+	+
45	30,44	карвеол	—	—	+	+	—	—
46	30,56	4-этилфенол	—	—	+	+	+	+
47	30,90	5-гидроксиметил-фуранкарбоксиальдегид	—	—	+	+	+	+
48	30,99	карвон	—	+	+	+	+	+
49	31,29	карвотанацетон	+	+	+	+	+	+
50	31,48	пиперитон	+	+	+	+	+	+
51	31,71	3-метокси-1,2-бензилдиол	—	—	+	+	—	—

Продолжение таблицы 2

№	Время удерживания, мин	Идентифицированный компонент экстракта эвкалипта прутовидного	Содержание компонента, %					
			ЭВ (120 °С, 5 МПа)	ЭВ (160 °С, 5 МПа)	ЭВ (200 °С, 5 МПа)	10 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	50 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	70 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)
52	32,29	1,4-бензилдиол	—	—	+	+	+	+
53	32,42	тимол	+	+	+	+	+	+
54	32,58	цуминол	+	+	+	+	+	+
55	32,81	карвакрол	+	+	+	+	+	+
56	33,08	2-метокси-4-этинил-фенол	—	—	+	+	+	+
57	33,16	3-мента-[1(7),8]-диен-2-гидропероксид	—	—	+	+	+	—
58	33,35	4-этил-1-диметокси-бензол	—	—	—	—	+	+
59	33,83	эндоацетокси-1,8-цинеол	—	—	+	+	+	+
60	33,93	терпенилацетат	—	—	—	—	+	+
61	33,99	2,6-диметоксифенол	+	+	+	+	+	+
62	34,32	эвгенол	+	+	+	+	+	+
63	34,49	2-пропилфенол	+	+	+	+	+	+
64	34,72	1,2,3-триоксибензол	+	+	+	+	+	+
65	35,16	3-гидрокси-4-метоксибензальдегид	—	—	—	—	+	+
66	35,26	4-гидрокси-3-метил-6-(1-метилэтил)-транс-2-циклогексен-1-он	+	+	+	+	+	+
67	35,41	5-гидрокси-р-мент-6-ен-2-он	+	+	+	+	+	+
68	35,81	(S)-(-)-изопропенил-1-циклогексен-1-карбоксилловая кислота	—	—	—	—	+	+
69	35,97	аромадендрен	—	—	—	—	+	+
70	36,33	кадинен	—	—	—	—	—	+
71	36,87	2-изопропенил-4а,8-диметил-1,2,3,4,4а,5,6,7-октагидронафталин	+	+	+	+	+	+
72	37,19	δ-селинен	+	+	+	+	+	+
73	37,44	α-селинен	+	+	+	+	+	+

**Экстракция биологически активных соединений из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*) докритической водой и водно-этанольными растворами**

Продолжение таблицы 2

№	Время удерживания, мин	Идентифицированный компонент экстракта эвкалипта прутовидного	Содержание компонента, %					
			ЭВ (120 °С, 5 МПа)	ЭВ (160 °С, 5 МПа)	ЭВ (200 °С, 5 МПа)	10 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	50 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	70 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)
74	37,57	2,4-дитретбутил-фенол	+	+	+	+	—	—
75	37,86	бутилгидрокситолуол	+	+	+	+	—	—
76	38,45	дигидроактинидиолид	—	—	—	+	+	+
77	38,62	гуайа-3,9-диен	—	—	—	—	+	+
78	38,84	эудесма-3,7(11)-диен	—	—	+	+	+	+
79	39,53	2,6-диметокси-4-этилфенол	+	+	+	+	+	+
80	40,09	спатуленол	+	+	+	+	+	+
81	40,32	глобулол	+	+	+	+	+	+
82	40,59	эпиглобулол	+	+	+	+	+	+
83	40,92	2,6-диметокси-4-(2-пропенил)-фенол	—	—	+	+	+	+
84	41,01	хинная кислота	—	—	+	+	—	—
85	41,57	бензофенон	—	—	—	—	+	+
86	41,72	γ-эудесмол	+	+	+	+	+	+
87	41,93	хинезол	—	—	—	+	+	+
88	42,08	дигидроконифероловый спирт	—	—	+	+	—	—
89	42,	β-эудесмол	+	+	+	+	+	+
90	42,28	α-эудесмол	+	+	+	+	+	+
91	43,27	феруловая кислота	—	—	+	+	+	+
92	43,91	4-(1E)-3-гидрокси-1-пропенил-2-метокси-фенол	—	—	—	—	—	+
93	44,00	конифероловый спирт	—	—	—	—	—	+
94	44,31	миристиновая кислота	—	—	—	—	+	+
95	44,54	лолиолид	—	—	+	+	+	+
96	44,66	10-ди-эпи-γ-эудесмол	+	+	+	+	+	+
97	45,31	эпи-критомериолид	+	+	+	+	+	+
98	45,93	лактаропаллидин	—	—	—	—	—	+



Окончание таблицы 2

№	Время удерживания, мин	Идентифицированный компонент экстракта эвкалипта прутовидного	Содержание компонента, %					
			ЭВ (120 °С, 5 МПа)	ЭВ (160 °С, 5 МПа)	ЭВ (200 °С, 5 МПа)	10 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	50 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)	70 % ЭЭ (200 °С, 5 МПа)
99	46,20	3,7,11,15-тетраметил-2-гексадецен-1-ол	—	—	—	—	+	+
100	46,75	метилпальмитат	—	—	—	—	+	+
101	47,17	пальмитиновая кислота	—	—	+	+	+	+
102	47,25	дибутилфталат	—	—	+	+	+	+
103	47,42	норевгенин	—	—	+	+	+	+
104	47,56	3,5-диметокси-4-гидрокси коричный альдегид	—	—	+	+	+	+
105	47,58	этилпальмитат	—	—	—	—	+	+
106	47,72	(+)-4,5-диоксо секо-γ-эудесмол	—	—	+	+	+	+
107	48,46	кембрен	—	—	—	—	+	+
108	48,57	1(2-нафтил)гепт-1-ен-3-он	—	—	—	—		+
109	48,89	фитол	—	—	—	—	+	+
110	49,12	линолевая кислота	—	—	+	+	+	+
111	49,34	стеариновая кислота	—	—	+	+	+	+
112	49,45	себаценовой кислоты дибутиловый эфир	—	—	—	—	+	+
113	51,23	октадеценамид	—	—	+	+	+	+
114	54,56	β-ситостерол	—	—	—	—	—	+

экстракции водой при температурах 120 и 160 °С и давлении 5 МПа было обнаружено около 70 соединений, из которых идентифицировано 47, представляющих собой в основном терпеновые соединения, которые выявлены также при изучении равновесной паровой фазы сухого растительного сырья листьев эвкалипта прутовидного [18] (таблица 2). Также в экстрактах обнаружены фенольные соединения (2,6-диметоксифенол, эвгенол, 2-пропилфенол, 1,2,3-триоксibenзол, 1,2-бензидиол), которые (по данным [18]) не детектируются в экстрактах, изготовленных согласно [2].

Повышение температуры процесса до 200 °С привело к увеличению числа извлеченных СЛОС до 98 соединений (таблица 2). Увеличение числа детектируемых соединений является следствием повышения эффективности экстракции при повышении температуры, что подтверждается увеличением концентрации (оценка по площадям пиков) ранее обнаруженных СЛОС. Среди них в составе экст-

ракта появляются соединения, которые в обычных условиях в воде не растворимы: феруловая кислота, хинная кислота, линолевая, пальмитиновая кислота, стеариновая кислота, фенольные соединения. Данные соединения были описаны ранее как составляющие густого экстракта листьев эвкалипта прутовидного в работе [14]. При этом не зафиксировано уменьшение концентрации соединений, обнаруженных после экстракции водой при 120 и 160 °С.

При повышении температуры процесса извлечения водой до 200 °С в экстракте детектируются фурановые соединения: (2Н)фуранон, 3-фуральдегид, 2-фуральдегид, фурфуриловый спирт, 2(3Н)дигидрофуранон, дигидрометилфуранон, 5-метилфурфураль, 4-гидрокси-2,5-диметил-3(2Р)фуранон, 5-гидроксиметил-фуранкарбоксияльдегид. Их наличие (о чем также свидетельствует запах экстрактов, полученных при 200 °С) говорит о процессах разложения целлюлозы.

Недавние исследования ученых университета Нового Южного Уэльса (Австралия) показали, что фураноны, которые они обнаружили в извлечении австралийской морской водоросли *Delisea pulchra*, могут использоваться в качестве антибиотиков нового поколения для борьбы с холерным вибрионом [19]. Было сделано предположение, что фураноны могут воздействовать на другие инфекции пищеварительной системы, а также бактерии, вызывающие фиброзный кистоз и туберкулез [19].

В водных экстрактах, полученных при 120 и 160 °С, были обнаружены пирановые соединения — 2,3-дигидро-5-гидрокси-6-метил-4Н-пиран-4-он, 2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-5-метил-4Н-пиран-4-он; при 200 °С к ним добавился 2,4-дигидропиранон; эти соединения обладают антимикробной и противовирусной активностью [20]. Во всех экстрактах присутствует фенол, также характеризующийся антибактериальным действием [21]. На основании этого можно предположить, что водный экстракт, полученный при 200 °С и 5 МПа, обладает бактерицидными свойствами. Фенол, фурановые и пирановые соединения ранее не описывались в качестве компонентов листьев эвкалипта прутовидного.

Добавление в воду 10 % этанола практически не изменило ее экстракционных характеристик, о чем свидетельствует качественный состав извлеченных компонентов (таблица 2). Однако при использовании в качестве экстрагента 50 и 70 % растворов этанола в воде при 200 °С и 5 МПа число фиксируемых извлеченных соединений достигло 200 и их качественный состав заметно изменился. В таблице 2 приведены только идентифицированные СЛОС, а также их соотношение в полученных экстрактах, однако большинство соединений не удалось идентифицировать. Соотношение компонентов в полученных экстрактах не позволяет судить об эффективности экстракции водно-этанольным раствором и приведено лишь для примерной оценки содержания компонентов в полученных экстрактах.

Состав экстрактов при использовании 50 и 70 % растворов этанола в воде во многом совпадает за исключением некоторых компонентов, содержащихся в небольших количествах. Такие СЛОС как  $\alpha$ -пинен,  $\beta$ -пинен,  $\alpha$ -феландрен, лимонен, аромандрен, фитол, кембрен, бензофенон, (S)-(-)-изопропенил-1-циклогексен-1-карбоксовая кислота, многие сложные эфиры извлекаются при 200 °С и 5 МПа из растительного сырья только 50 и 70 % растворами этанола. А 1,1-диэтокси-3-метилбутан, 3-метил-2,5-фурандион,  $\gamma$ -терпинен, кадинен, кониферилловый спирт, лактаропаллидин, 1(2-нафтил)гепт-1-ен-3-он,  $\beta$ -ситостерол содержатся только в экстрактах, полученных с использованием 70 % этанола. При его использовании также значительно повышается концентрация остальных соединений (оценка по площадям пиков). Однако ряд веществ, таких как 2,4-дигидропиранон, хинная

кислота, дигидрокониферилловый спирт, присутствует только в экстрактах, полученных экстракцией водой и 10 % этанолом при 200 °С и 5 МПа. Поэтому при выборе экстрагента для выделения СЛОС эвкалипта прутовидного необходимо руководствоваться целевым составом экстракта. В целом, наиболее представительный качественный состав СЛОС характерен для экстракта, полученного с использованием 70 % этанола при 200 °С и 5 МПа. Это подтверждает результаты оценки эффективности экстракции СЛОС листьев эвкалипта прутовидного по количеству извлекаемых  $\alpha$ -пинена,  $\beta$ -пинена,  $\alpha$ -феландрена, *n*-цимена, 1,8-цинеола, выполненной в работе [22].

Сравнение результатов ГХ-МС анализа полученных экстрактов листьев эвкалипта прутовидного и СК-СО<sub>2</sub> экстрактов, описанных в работе [8], показало, что при экстракции водой и тем более 70 % раствором этанола в воде при 200 °С и 5 МПа извлекается более широкий спектр соединений, что можно объяснить различием в полярности экстрагентов.

Изучение гексановой и хлороформенной вытяжек позволило наиболее точно провести идентификацию СЛОС, поскольку в этом случае нивелируется влияние матрицы, а также происходит концентрирование СЛОС. Установлено, что основная масса СЛОС экстрагируется первой порцией экстрагента. Во второй порции экстрагента содержится меньшее количество СЛОС, а третья порция практически чистая. Следовательно, для извлечения СЛОС достаточно 2-кратной переэкстракции гексаном или хлороформом. При сравнении качественного и количественного (по площадям пиков) составов гексановой и хлороформенной вытяжек установлено, что хлороформ эффективнее экстрагирует СЛОС эвкалипта прутовидного из полученных экстрактов (рис. 1).

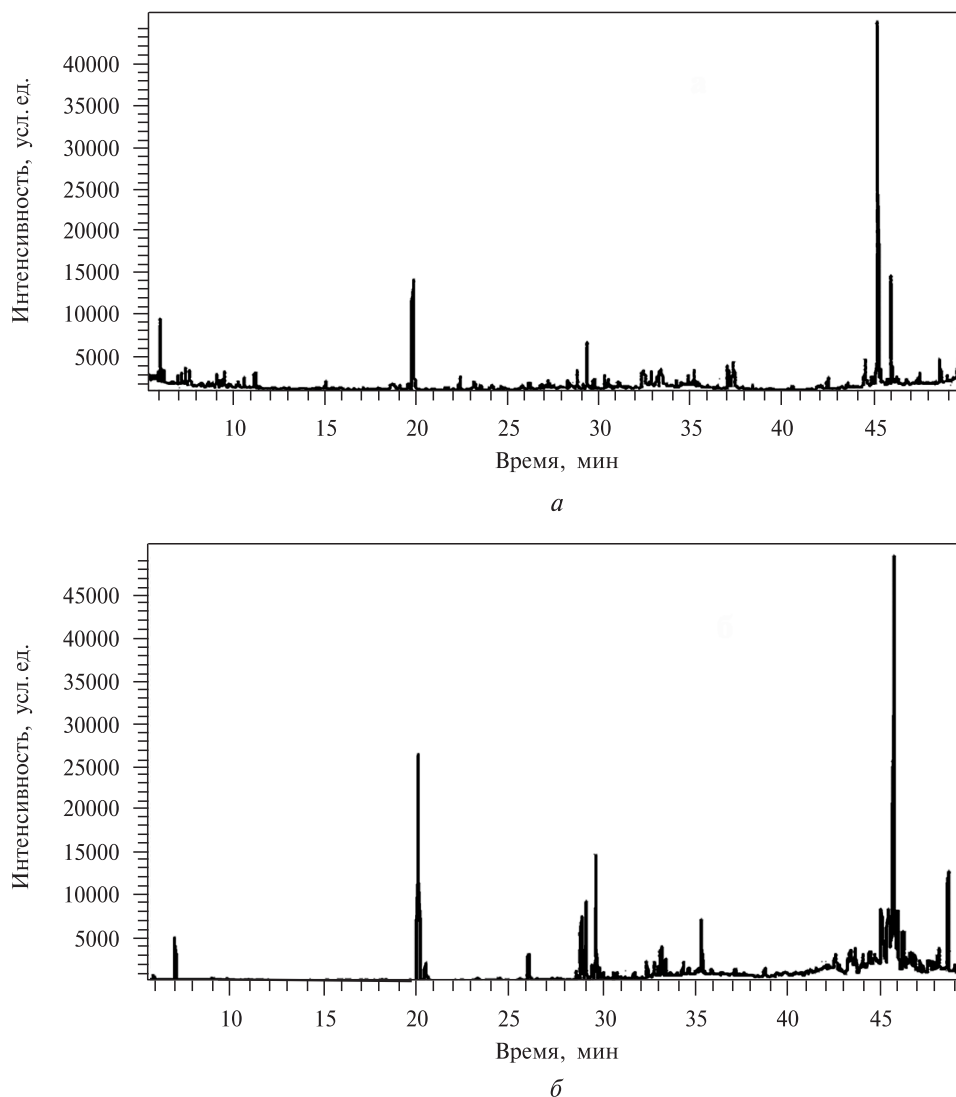
До настоящего времени идентификация нелетучих соединений эвкалипта прутовидного проводилась методами ВЭЖХ-МС [13], тонкослойной и ионэкслюзионной хроматографии, УФ-спектроскопии [3, 8, 14, 23–26]. В рамках данного исследования была проведена идентификация нелетучих БАС методом ГХ-МС после проведения дериватизации с помощью *N,O*-бис-(триметилсилил)-трифторацетамида (БСТФА). На рис. 2 представлены хроматограммы продуктов дериватизации водных и водно-спиртовых (70 % этанол) экстрактов, полученных при 200 °С и 5 МПа. Они демонстрируют фрагментарное совпадение состава анализируемых растворов, а также более высокую интенсивность пиков на хроматограммах водно-этанольного экстракта.

На хроматограмме, полученной после дериватизации сухого остатка водного экстракта (200 °С), группа пиков с временем удерживания 33–36 мин, соответствующая триконтановой кислоте,  $\beta$ -ситостеролу, а также соединениям, подобным урсоловой или олеаноловой кислоте (более точную идентификацию провести не удалось), присутствует на уровне фона, тогда как у водно-этанольного экстракта эти пики имеют значительную интенсивность.

Нужно отметить тот факт, что после дериватизации сухих остатков полученных экстрактов идентификация компонентов на хроматограммах сильно затруднена присутствием большого количества сахаров, элюирующихся одновременно с фенольными кислотами.

Для разделения агликонов и гликозидов был проведен кислотный и щелочной гидролиз водного (200 °С) и водно-спиртового (70 % этанол) экстрактов с дальнейшей переэкстракцией хлороформом и дериватизацией сухого остатка БСТФА. Известно, что при кислотном гидролизе разрушаются *O*-гликозиды. В условиях щелочного гидролиза расщепляются лишь ацилгликозиды [1].

**Экстракция биологически активных соединений из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*) докритической водой и водно-этанольными растворами**

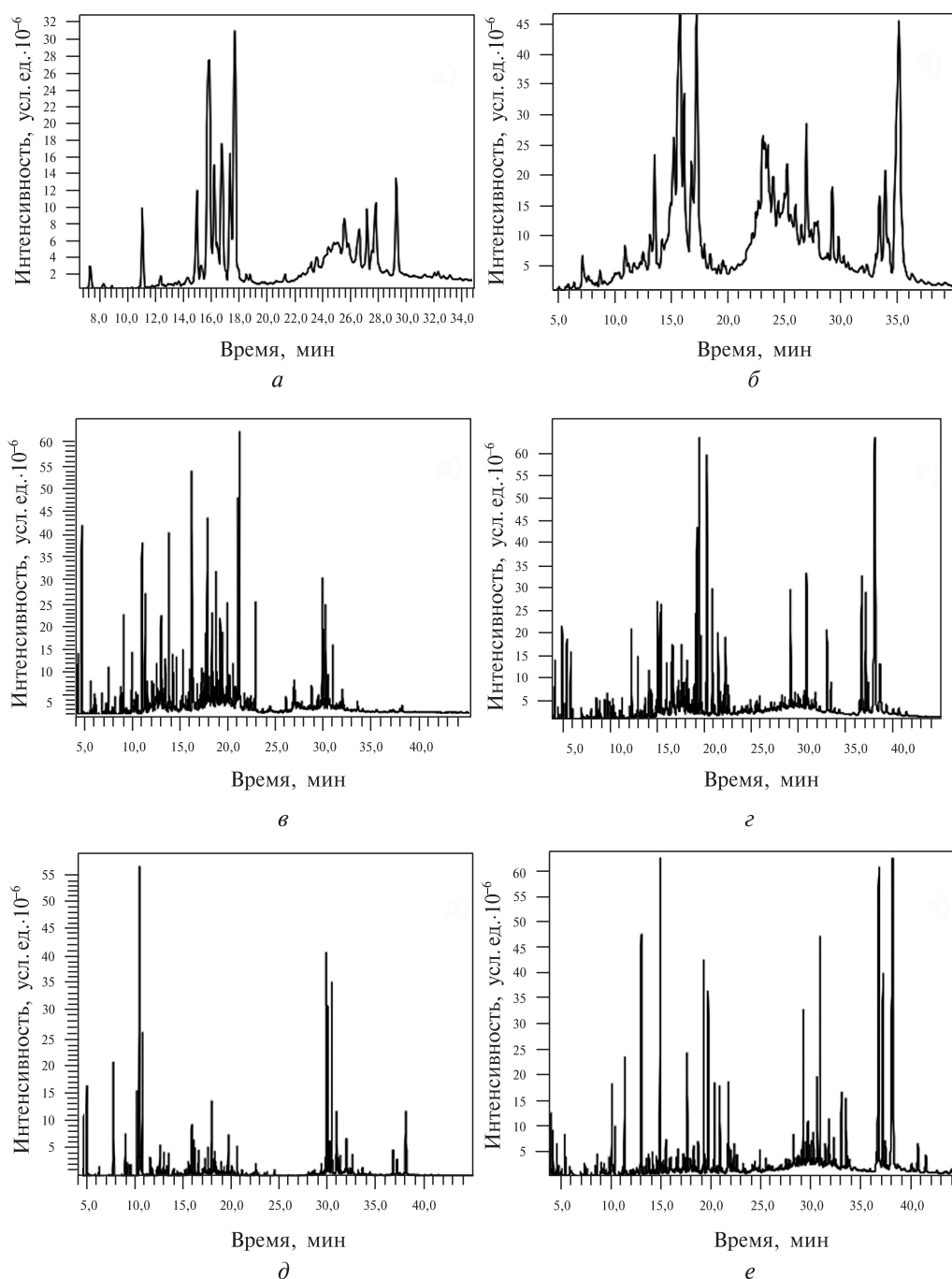


**Рис. 1.** Хроматограммы (ГХ-МС) вытяжек из водного экстракта, полученного при 200 °С и 5 МПа:

*а* — гексановой; *б* — хлороформенной

Хроматограммы, полученные при анализе триметилсилильных производных гидролизатов, представлены на рис. 2 в едином масштабе. Так, анализ гидролизатов показал превалирование в водном экстракте (200 °С) ацилгликозидов, в то же время выявил отсутствие на хроматограмме ряда пиков с временем удерживания от 35 до 42 мин, соответствующих соединениям со структурой урсоловой и олеаноловой кислот, по сравнению с гидролизатом водно-этанольного (70 %) экстракта.

При проведении ГХ-МС анализа триметилсилильных производных установлено, что большинство полученных масс-спектров не имеют аналогов в имеющихся библиотеках. В связи с этим будет проведена их дополнительная расшифровка, результаты которой будут опубликованы позднее. Идентифицированные соединения приведены в таблице 3. В данной таблице не представлены соединения,



**Рис. 2.** Хроматограммы (ГХ-МС) дериватизированных образцов:

*a* — сухого остатка водного экстракта; *б* — сухого остатка водно-этанольного экстракта (70 % об. этанола в воде); *в* — хлороформенной вытяжки после щелочного гидролиза водного экстракта; *г* — хлороформенной вытяжки после щелочного гидролиза водно-этанольного экстракта (70 % об. этанола в воде); *д* — хлороформенной вытяжки после кислотного гидролиза водного экстракта; *е* — хлороформенной вытяжки после кислотного гидролиза водно-этанольного экстракта (70 % об. этанола в воде); все экстракты получены при 200 °С

Таблица 3

**Идентификация компонентов после дериватизации**

№	Компонент	ЭВ (200 °С, 5 МПа)			ЭЭ 70 % (200 °С, 5 МПа)		
		Без гидролиза	Щелочной гидролиз	Кислотный гидролиз	Без гидролиза	Щелочной гидролиз	Кислотный гидролиз
<b>Кислоты</b>							
1	бензойная	+	+	—	+	+	+
2	винная	—	—	—	—	+	—
3	фумаровая	+	—	—	—	+	—
4	глюкуроновая	+	—	—	—	—	—
5	галловая	+	—	—	+	+	—
6	2-гидроксикаприловая	—	—	—	—	+	—
7	дегидроабетиновая	+	—	—	+	—	—
8	каприловая	—	+	—	—	—	—
9	коричная	—	+	—	—	+	—
10	кофейная	—	—	—	—	+	+
11	лимонная	—	—	—	—	+	—
12	линолевая	—	—	—	—	+	—
13	линоленовая	—	—	—	—	+	—
14	миристиновая	+	—	+	+	—	—
15	молочная	—	+	+	+	+	+
16	малоновая	+	+	+	+	+	+
17	нонановая	—	+	—	—	—	—
18	олеиновая	+	—	—	+	—	+
19	пальмитиновая	+	+	+	+	+	+
20	пентановая	—	—	—	—	+	—
21	пентадекановая	—	—	+	—	—	—
22	протокатеховая	—	—	—	—	+	—
23	салициловая	—	+	—	—	—	—
24	синаповая	—	+	—	—	+	—
25	стеариновая	+	—	—	+	+	—
26	тетрадекандиовая	—	+	—	—	—	—

Продолжение таблицы 3

№	Компонент	ЭВ (200 °С, 5 МПа)			ЭЭ 70 % (200 °С, 5 МПа)		
		Без гидролиза	Щелочной гидролиз	Кислотный гидролиз	Без гидролиза	Щелочной гидролиз	Кислотный гидролиз
27	треоновая	+	—	—	—	—	—
28	фенилпропановая	—	+	—	—	—	—
29	фенилуксусная	—	+	—	—	—	—
30	феруловая	—	+	—	—	+	—
31	хинная	+	—	—	—	—	—
32	щавелевая	—	—	—	—	+	—
33	шикимовая	+	+	—	+	+	—
34	янтарная	+	—	—	+	—	—
35	яблочная	+	—	—	+	—	—
Эфиры							
36	этилгаллат	—	—	—	—	+	+
37	этилолеат	—	—	—	—	—	+
38	этиlpальмитат	—	—	—	—	+	+
39	этиллинолеат	—	—	—	—	+	+
40	этиллиноленат	—	—	—	—	+	—
Сахара							
41	арабиноза	+	—	—	+	—	—
42	галактопираноза	+	—	—	+	—	—
43	β-галактофураноза	+	—	—	+	—	—
44	глюкопираноза	+	—	—	+	—	—
45	глюкофураноза	+	—	—	—	—	—
46	глюкоза	+	—	—	—	—	—
47	глюконовой кислоты лактон	+	—	—	—	—	—
48	ксилоновой кислоты лактон	+	—	—	—	—	—
49	D-рибоза	+	—	—	+	—	—
50	рамнопираноза	+	—	—	—	—	—
51	D-галофураноза	+	—	—	+	—	—

**Экстракция биологически активных соединений из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*) докритической водой и водно-этанольными растворами**

Окончание таблицы 3

№	Компонент	ЭВ (200 °С, 5 МПа)			ЭЭ 70 % (200 °С, 5 МПа)		
		Без гидролиза	Щелочной гидролиз	Кислотный гидролиз	Без гидролиза	Щелочной гидролиз	Кислотный гидролиз
<b>Спирты</b>							
52	фруктоза	+	—	—	+	—	—
53	глицерин	+	—	—	+	—	+
54	гомованилиновый спирт	—	+	+	—	—	—
55	гексакозол	—	—	+	—	+	+
56	октакозол	—	—	—	—	+	+
57	β-ситостерол	—	—	+	+	+	+
58	триконтанол	—	—	+	—	+	+
59	4-третбутилкатехол	—	+	—	—	—	—
60	тетракозанол	—	—	—	—	—	+
61	фитол	+	—	—	+	—	—
62	флороглюцинол	—	+	—	—	—	—

приведенные в таблице 2. Как видно из полученных данных, экстракты содержат различные виды соединений — двухосновные карбоновые кислоты, непредельные карбоновые кислоты, фенольные кислоты, жирные кислоты, многоатомные спирты, сахара, смоляные кислоты, растительные стероиды. Обнаружен ряд соединений, являющихся продуктами разложения: (2*R*,3*S*)-2,3,4-тригидроксипутановая кислота — продукт разложения аскорбиновой кислоты, глюкуроновая кислота — продукт разложения глюкозы. Наличие данных соединений закономерно, так как процесс экстракции происходит при повышенных температуре и давлении.

Многие соединения, обнаруженные в полученных экстрактах, ранее не описывались как компоненты листьев эвкалипта прутовидного: например, лактоны глюконовой и ксилоновой кислот, которые широко используются в мясopерерабатывающей промышленности в качестве пищевых добавок для улучшения вкуса и увеличения срока годности [27].

ГХ-МС анализ экстрактов показал наличие разнообразных фенолов: 1,2-бензилдиола, 4-этилфенола, 3-метокси-1,2-бензилдиола, 1,4-бензилдиола, 2-метокси-4-этилфенола, 4-этил-1-диметоксибензола, 2,6-диметоксифенола, эвгенола, 2-пропилфенола, 1,2,3-триоксипензола, 2,4-дитретбутилфенола, бутилгидрокситолуола, 2,6-диметокси-4-этилфенола, 2,6-диметокси-4-(2-пропенил)-фенола, бензофенона, 4-((1*E*)-3-гидрокси-1-пропенил)-2-метоксифенола. Присутствие данных соединений в листьях эвкалипта прутовидного ранее не описывалось. Наличие фенолов в растительных экстрактах закономерно, поскольку они играют важную роль в жизни растения, стимулируя либо ингибируя биохимические процессы [28]. Зачастую состав веществ фенольной природы определяет терапевтические

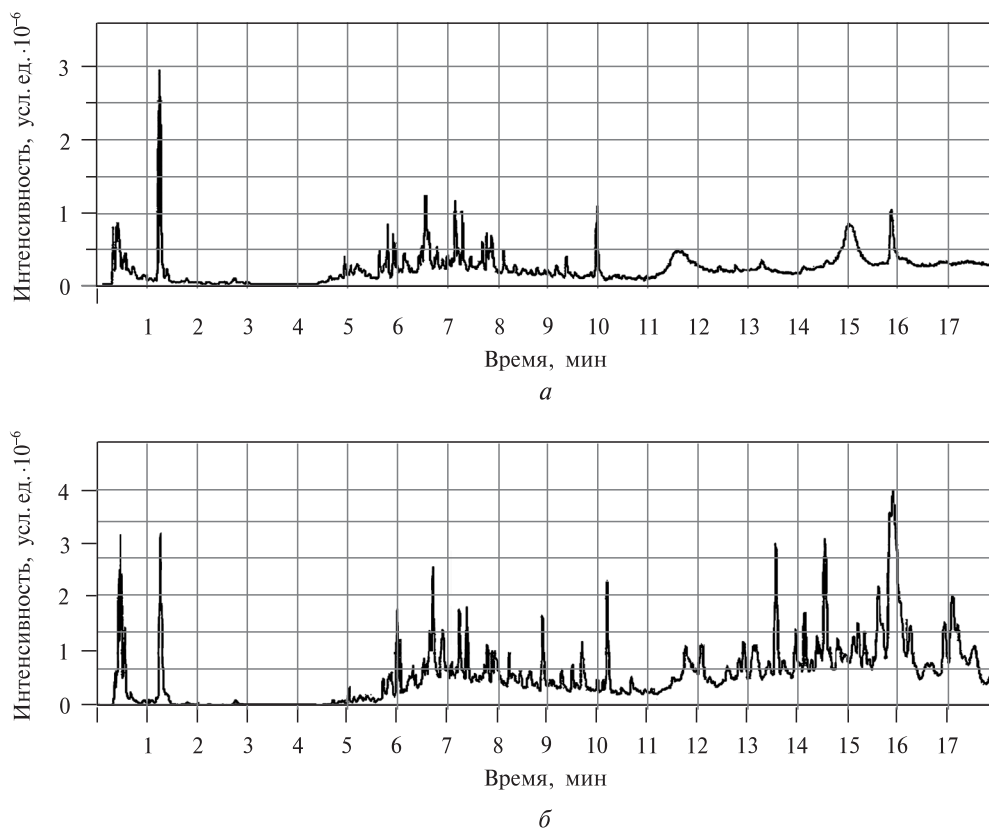


свойства растений [29]. Кроме этого, в литературе есть сведения о том, что растения, произрастающие в тропических и альпийских районах, содержат большее количество фенолов, чем растения умеренных зон [28]. Большинство обнаруженных фенолов в малых дозах обладают антиоксидантными свойствами. Так, бутилгидрокситолуол используется в качестве антиоксиданта в производстве пищевых продуктов, смазочных масел, каучуков, пластмасс [30]; используется в медицине в противоожоговых и противовоспалительных средствах наружного применения [31]. После проведения гидролиза в экстрактах были идентифицированы крезолы, метокси- и этоксибензолы, этилфенолы, флороглюцинол, которые ранее не детектировались при непосредственном анализе экстрактов. Флороглюцинол в природе входит в состав флавонов и катехинов в виде гликозидов [32]. Вероятно, при проведении гидролиза разрушились связи не только между агликонами и гликозидами, но и внутри агликонов.

Гомованилиновый спирт, обнаруженный в гидролизате водного экстракта (200 °С), часто является метаболитом гидрокситирозола — наиболее активного из фенольных соединений оливкового масла [33]. Также гомованилиновый спирт может быть метаболитом лигнина, который относится к полифенолам [34]. Однозначно нельзя сказать, какое соединение было нативным, ясно только, что данный компонент содержится только в указанном экстракте.

В полученных экстрактах листьев эвкалипта прутовидного обнаружены фенольные кислоты, одно- и двухосновные карбоновые кислоты. Закономерно присутствие в экстрактах шикимовой и малоновой кислот как начальных звеньев биосинтеза фенольных соединений в растении. По шикиматному маршруту образуются галловая кислота, салициловая кислота, кониферилловый спирт, кофейная кислота, феруловая кислота, синаповая кислота, бензойная кислота [28], также обнаруженные в экстрактах. Коричные кислоты могут быть связаны с сахарами гликозидными и/или сложноэфирными связями. Кроме сахаров, к оксикоричным кислотам могут присоединяться циклогексанокарбоновые кислоты (например, хинная), органические кислоты (например, винная), флавонолы, антоцианидины, С-гликозиды флавонов, терпеноиды и алкалоиды [35]. При исследовании полученных экстрактов кофейная, феруловая, синаповая кислоты детектируются после дериватизации щелочного гидролизата, следовательно, в экстрактах они присутствуют в связанном состоянии с гликонами через ацилгруппу. Винная, фенилуксусная, фенилпропановая, нонановая, салициловая, лимонная, линолевая, линоленовая, каприловая кислоты обнаружены также только в щелочных гидролизатах, поэтому теоретически могут быть связаны изначально с оксикоричными кислотами, но могут участвовать и в связи с гликонами через сложноэфирное соединение. Феруловая кислота детектируется также и в свободном состоянии при непосредственном анализе экстрактов. Шикимовая кислота участвует в процессах образования фенилаланина, тирозина, триптофана, убихинона, *n*-аминобензоата [36], а также является ценным продуктом для производства противовирусного препарата осельтамивира (тамифлю) [37]. Дегидроабиетиновая кислота относится к смоляным кислотам, до настоящего времени обнаруживалась только в составе сосновой и еловой смолы [38, 39]. Бензойная кислота широко используется в пищевой промышленности как природный консервант. Салициловую кислоту на данный момент относят к фитогормонам [28]. Феруловая кислота обладает радиопротекторной, антигипоксической, церебропротекторной, антиоксидантной, противовоспалительной активностью, способна активировать митоз и синтез ДНК. Кофейная и феруловая кислоты при курсовом применении в течение 14 дней существенно





**Рис. 4.** Хроматограммы (ВЭЖХ-МС) экстрактов, полученных при 200 °С и 5 МПа: а — водного; б — водно-этанольного (70 % об. этанола в воде)

лярный вес которого составляет 386, то пик протонированной молекулы  $[MН^+]$  наблюдается при  $m/z = 387$ , а если структуру ацилфлороглюцин-сесквитерпен (молекулярный вес 454), то при  $m/z = 455$ . По полученным значениям массы молекулярных ионов удалось идентифицировать только 20 компонентов с вероятностью 90–100 %, имеющих наиболее интенсивные пики на хроматограммах экстрактов. Большинство веществ идентифицируется в обоих видах экстрактов, но, как правило, высота пиков компонентов на хроматограмме выше для водно-этанольного (70 %) экстракта (рис. 4, таблица 4).

При исследовании полученных экстрактов листьев эвкалипта прутовидного методом ВЭЖХ-МС удалось обнаружить эуглобали и эвкалиптин. Кроме этого, в экстрактах обнаружены таннины и аминокислоты. Такие компоненты как  $\beta$ -ситостерин, урсоловая кислота и эуглобаль сесквитерпен обнаружены только в водно-этанольном (70 %) экстракте. Аминокислоты, обнаруженные в экстрактах, имеют небольшую высоту пиков и не относятся к доминирующим компонентам. Все обнаруженные при ВЭЖХ-МС анализе соединения ранее описывались как компоненты листьев эвкалипта прутовидного.

В результате изучения хроматографическими методами экстрактов листьев эвкалипта прутовидного, полученных с помощью докритической воды и водно-этанольных смесей, установлено, что число обнаруженных и идентифицированных соединений довольно сильно отличается, особенно при проведении дериватиза-

**Экстракция биологически активных соединений из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*) докритической водой и водно-этанольными растворами**

Таблица 4

**Компоненты экстрактов эвкалипта прутовидного, идентифицированные при ВЭЖХ-МС анализе**

Время, мин	Определенная молекулярная масса		Формула	Вещество	Высота пика	Вид экстракта
	По отрицательным ионам	По положительным ионам				
0,368	—	116,0706	$C_5H_{10}NO_2$	пролин	189045	ЭВ
0,368	—	116,0706	$C_5H_{10}NO_2$	пролин	289045	ЭЭ
0,419	192,1222	—	$C_6H_8O_7$	лимонная кислота	1389022	ЭЭ
0,419	192,1222	—	$C_6H_8O_7$	лимонная кислота	464571	ЭВ
0,474	134,0874	—	$C_4H_6O_5$	яблочная кислота	273688	ЭЭ
0,481	134,0874	—	$C_4H_6O_5$	яблочная кислота	38492	ЭВ
1,16	—	76,0393	$C_2H_6NO_2$	глицин	65812	ЭВ
1,16	—	76,0393	$C_2H_6NO_2$	глицин	34727	ЭЭ
1,236	169,1194	—	$C_7H_6O_5$	галловая кислота	1325132	ЭЭ
1,236	169,1194	—	$C_7H_6O_5$	галловая кислота	1208348	ЭВ
1,243	125,1411	—	$C_2H_7NO_3S$	таурин	81236	ЭВ
1,243	125,1411	—	$C_2H_7NO_3S$	таурин	77421	ЭЭ
1,256	—	90,0549	$C_3H_8NO_2$	аланин	114546	ЭВ
1,256	—	90,0547	$C_3H_8NO_2$	аланин	94546	ЭВ
1,365	—	106,0499	$C_3H_8NO_3$	серин	65432	ЭВ
1,364	—	106,0498	$C_3H_8NO_3$	серин	51597	ЭЭ
3,321	—	134,0449	$C_4H_8NO_4$	аспарагиновая кислота	294366	ЭВ
3,322	—	134,0450	$C_4H_8NO_4$	аспарагиновая кислота	94662	ЭЭ
4,245	—	132,1019	$C_6H_{14}NO_2$	лейцин (изолейцин)	425631	ЭВ
4,244	—	132,1019	$C_6H_{14}NO_2$	лейцин (изолейцин)	129372	ЭЭ
5,74	—	166,0863	$C_9H_{12}NO_2$	фенилаланин	123349	ЭВ

Время, мин	Определенная молекулярная масса		Формула	Вещество	Высота пика	Вид экстракта
	По отрицательным ионам	По положительным ионам				
5,74	—	166,0863	$C_9H_{12}NO_2$	фенилаланин	106151	ЭЭ
5,92	192,1692	—	$C_7H_{12}O_6$	хинная кислота	600192	ЭЭ
5,92	192,1692	—	$C_7H_{12}O_6$	хинная кислота	246380	ЭВ
5,926	—	162,1434	$C_9H_6O_3$	умбеллиферон	430887	ЭЭ
5,926	—	162,1434	$C_9H_6O_3$	умбеллиферон	165134	ЭВ
5,979	354,1581	—	$C_{16}H_{18}O_9$	хлорогеновая кислота	209464	ЭВ
5,981	354,1526	—	$C_{16}H_{18}O_9$	хлорогеновая кислота	191171	ЭЭ
6,433	192,0661	—	$C_{10}H_8O_4$	скополетин	47854	ЭВ
6,438	192,0657	—	$C_{10}H_8O_4$	скополетин	124684	ЭЭ
6,354	—	340,4568	$C_{19}H_{32}O_5$	эвкалиптин	444507	ЭЭ
6,354	—	340,4568	$C_{19}H_{32}O_5$	эвкалиптин	38008	ЭВ
6,638	386,1995	—	$C_{23}H_{30}O_5$	эуглобаль монотерпен	100104	ЭЭ
6,638	386,2006	—	$C_{23}H_{30}O_5$	эуглобаль монотерпен	48138	ЭВ
6,913	—	414,713	$C_{29}H_{50}O$	$\beta$ -ситостерин	1719923	ЭЭ
7,147	302,1974	—	$C_{14}H_6O_8$	эллаговая кислота	1054551	ЭЭ
7,151	302,1974	—	$C_{14}H_6O_8$	эллаговая кислота	701657	ЭВ
15,681	454,6032	—	$C_{28}H_{38}O_5$	эуглобаль сесквитерпен	1687016	ЭЭ
16,269	—	456,3607	$C_{30}H_{48}O_3$	урсоловая кислота	161854	ЭЭ

ции гидролизатов и при ВЭЖХ-МС анализе (таблица 5). Такую разницу можно объяснить разнообразием форм природных соединений, большинство из которых отсутствуют в доступных базах данных. Число обнаруженных соединений при дериватизации гидролизатов полученных экстрактов больше за счет детектирования и триметилсилильных производных, и непрореагировавших соединений. Значительное число неидентифицированных соединений ставит задачу дальнейшего

Таблица 5

**Общее число обнаруженных и идентифицированных компонентов экстрактов листьев эвкалипта прутовидного**

Метод анализа		Обнаружено компонентов		Идентифицировано компонентов	
		ЭВ (200 °С, 5 МПа)	ЭЭ 70 % (200 °С, 5 МПа)	ЭВ (200 °С, 5 МПа)	ЭЭ 70 % (200 °С, 5 МПа)
ГХ-МС экстрактов		98	198	82	105
ГХ-МС дериватизированных экстрактов	Сухого остатка	43	68	29	22
	Кислотный гидролиз	237	247	29	35
	Щелочной гидролиз	183	240	37	47
ВЭЖХ-МС		196	200	19	20

изучения экстрактов листьев эвкалипта прутовидного, полученных в докритических условиях (критическая температура для водно-этанольных смесей в зависимости от концентрации этанола составляет 513,92—607,15 К [43]).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения качественного состава экстрактов листьев эвкалипта прутовидного, полученных в докритических условиях, установлено, что компонентный состав полученных экстрактов включает обширный спектр соединений: пирановые, фурановые производные, терпеноидные, фенольные. Присутствие большинства из них закономерно, т.к. они являются участниками биохимических процессов в растениях. Наибольшее число БАС извлекается при экстракции 70 % раствором этанола в воде при 200 °С и 5 МПа. Идентифицировано около 200 соединений листьев эвкалипта прутовидного, многие из которых ранее не описывались как составляющие данного растения. Их обнаружение говорит об уникальных свойствах экстрактов листьев эвкалипта прутовидного, полученных в среде докритической воды и водно-этанольных смесей при 200 °С и 5 МПа, что позволяет рассматривать их в качестве нового лекарственного средства, а технология извлечения БАС листьев эвкалипта прутовидного методом докритической экстракции может быть рекомендована фармацевтическим компаниям для комплексной переработки данного растительного сырья.

Работа поддержана Минобрнауки РФ в рамках государственного задания на выполнение работ, проект № 608.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара: Офорт, 2007.
2. Фармакопея СССР. Изд. 11. Вып. 2. М.: Медицина, 1989. 216 с.
3. Зилфикаров И.Н. Дис. ... д-ра фарм. наук. Пятигорск, 2008. 290 с.
4. Патент РФ 2410112 (2009).
5. Патент РФ 1438042 (1993).

6. Патент РФ 2032414 (1995).
7. Патент РФ 2320360 (2008).
8. *Зильфикаров И.Н., Алиев А.М.* СКФ-ТП. 2008. Т. 3. № 2. С. 43.
9. *Eikani M.H., Golmohammad F., Mirza M., Rowshanzamir S.* J. of Food Process Engineering. 2007. Vol. 30. P. 255.
10. *Uematsu M., Franck E.U.* J. Phys. Chem. Ref. Data. 1980. Vol. 9. No. 4. P. 1291.
11. *Платонов И.А., Павлова Л.В., Новикова Е.А., Никитченко Н.В., Рошупкина И.Ю.* Физикохимия поверхности и защита материалов. 2014. Т. 50. № 6. С. 633.
12. *Maghsoodlou M.T., Kazemi poor N., Valizadeh J., Seifi M.F.N., Rahneshan N.* Avicenna J. Phytomed. 2015. Vol. 5. No. 6. P. 540.
13. *Eucalyptus: The Genus Eucalyptus / Ed. by John J.W. Coppen.* London: Taylor & Francis e-Library, 2005. 450 с.
14. *Кошевой О.Н., Виноградов Б.А., Ковалева А.М., Комисаренко А.Н.* Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. Вип. XXIV. 2011. № 2. С. 23.
15. *Кузьменко А.Н., Пащикова Е.Б., Пирогов А.В., Разживин Р.В., Решетняк В.Ю.* Вестник Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2010. Т. 51. № 2. С. 132.
16. *Платонов И.А., Никитченко Н.В., Онучак Л.А., Арутюнов Ю.И., Куркин В.А., Смирнов П.В.* СКФ-ТП. 2010. Т. 5. № 3. С. 67.
17. *Верниковская Н.А.* Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Краснодар, 2011. 23 с.
18. *Павлова Л.В., Платонов И.А., Новикова Е.А., Никитченко Н.В.* Аналитика и контроль. 2013. Т. 17. № 3. С. 304.
19. <http://www.membrana.ru/particle/7965>
20. *Лечение гепатита С. Руководство, перспективы / Best clinical practice.* Русское издание. М.: Рид Елсивер, 2011. С. 37.
21. *Клец О.П., Левента А.И., Минакина Л.Н., Кукулина Л.Б.* Антисептики: Учебное пособие для самостоятельной работы студентов. Иркутск: ГОУ ВПО ИГМУ Росздрава, 2012. 47 с.
22. *Павлова Л.В., Платонов И.А., Никитченко Н.В., Новикова Е.А.* СКФ-ТП. 2014. Т. 9. № 4. С. 12.
23. *Кошовий О.М., Комісаренко А.М., Ковальова А.М., Малоштан Л.М., Мудрик .М.* Фармаком. 2005. № 2/3. С. 151.
24. *Кошовий О.М., Комісаренко А.М., Ковальова А.М., Мудрик .М.* Фітотерапія. Часопис. 2005. № 3. С. 59.
25. *Кошевой О.Н.* Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. Киев, 2007. 23 с.
26. *Кузьменко А.Н.* Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Москва, 2004. 149 с.
27. *Химический энциклопедический словарь / Под ред. И.Л. Кнунянц.* М.: Советская энциклопедия, 1983. С. 17.
28. *Валиева А.И., Абдрахимова Й.Р.* Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты. Ч. 3. Фенольные соединения: Учебно-методическое пособие. Казань: Казанский федеральный ун-т, 2010. 40 с.
29. *Темердашев З.А., Фролова Н.А., Кольчев И.А., Цюпка Т.Г.* Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2011. Т. 77. № 11. С. 22.
30. *Харлампович Г.Д., Чуркин Ю.В.* Фенолы. М.: Химия, 1974. 376 с.
31. *Эмануэль Н.М.* Кинетика экспериментальных опухолевых процессов. М.: Наука, 1977. 416 с.
32. *Артамонова Н.Н.* Триоксibenзолы // Химическая энциклопедия: В 5 т. / Под ред. Н.С. Зефирова. М.: Большая Российская энциклопедия, 1995. Т. 4. 639 с.
33. Патент РФ 2432169 (2011).
34. *Попова Н.Р., Боголищын К.Г., Поварнищина Т.В.* Химия растительного сырья. 2008. № 4. С. 5.
35. *Харборн Д.Н.* Биохимия фенольных соединений. М.: Мир, 1968. 448 с.
36. *Мецлер Д.* Биохимия. Химические реакции в живой клетке. Т. 3. Пер. с англ. под ред. акад. А.Е. Браунштейна. М.: Мир, 1980.
37. *Hoffmann-La Roche: Factsheet Tamiflu, Stand 17. November 2006.* <http://www.roche.com/index.htm>
38. *Племенков В.В., Апполонова С.А., Кирлица Д.А.* Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. 2004. Т. 5. № 1. С. 30.

**Экстракция биологически активных соединений из листьев эвкалипта прутовидного (*Eucalypti viminalis Labill*) докритической водой и водно-этанольными растворами**

---

39. Тарабанько В.Е., Ульянова О.А., Калачева Г.С. Химия растительного сырья. 2010. № 1. С. 121.
  40. Меркуленко З.В. Оксикоричные кислоты и их применение в медицине // Материалы VII Международной студенческой электронной научной конференции «Студенческий научный форум» – 2015. (<http://www.scienceforum.ru/2015/1119/10321>; дата обращения: 06.07.2016).
  41. Семенов А.А. Очерк химии природных соединений. Новосибирск: Наука, 2000.
  42. Леонова М.В., Климочкин Ю.Н. Экстракционные методы изготовления лекарственных средств из растительного сырья: Учебно-методическое пособие. Самара: Самарский гос. техн. ун-т, 2012. 118 с.
  43. Базаев А.Р., Базаев Э.А. СКФ-ТП. 2010. Т. 5. № 3. С. 15.
- 

**EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF LEAVES EUCALYPTUS (*EUCALYPTI VIMINALIS LABILL*) BY WATER AND WATER-ETHANOL MIXTURES IN SUBCRITICAL CONDITIONS**

**<sup>1</sup>L.V. Pavlova, <sup>1</sup>I.A. Platonov, <sup>1</sup>N.V. Nikitchenko, <sup>1</sup>I.N. Kolesnichenko, <sup>2</sup>V.A. Kurkin**

*<sup>1</sup>Samara National Research University, Samara, Russia*

*<sup>2</sup>Samara State Medical University, Samara, Russia*

Extraction of biologically active compounds of eucalyptus leaves (*Eucalypti viminalis Labill*) using water at 120–200 °C and 5.0 MPa in a dynamic regime and 10, 50 and 70 % ethanol solutions in water at 200 °C and 5.0 MPa is carried out. Qualitative composition of the extracts is determined by gas and high performance liquid chromatography/mass spectrometry.

Key words: subcritical water, extraction, bioactive compounds, eucalyptus, derivatization, semivolatile organic compounds.