

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-79-86>
УДК 544.165



Оригинальная статья / Research article

Глубокие эвтектические растворители на основе холина хлорида как перспективные экстрагенты флавоноидов из седативной растительной композиции

М. А. Джавахян, Ю. Э. Прожогина ✉

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

✉ Контактное лицо: Прожогина Юлия Эдуардовна. E-mail: yulia-pro93@mail.ru

ORCID: М. А. Джавахян – <https://orcid.org/0000-0003-2673-6203>; Ю. Э. Прожогина – <https://orcid.org/0000-0003-4803-5133>.

Статья поступила: 18.07.2022

Статья принята в печать: 20.09.2022

Статья опубликована: 25.11.2022

Резюме

Введение. Глубокие эвтектические растворители [ГЭР, deep eutectic solvents (DESS)] сегодня являются объектом пристального внимания научного сообщества различных областей, таких как химия, биология, фармация, биотехнология. Сферы применения ГЭР широко варьируют, и одной из них является извлечение биологически активных веществ из растительного сырья.

Цель. Целью настоящей работы было изучить возможность экстракции флавоноидов из растительного сырья посредством глубоких эвтектических растворителей на основе холина хлорида, а также сопоставить эффективность их экстракции с традиционными растворителями.

Материалы и методы. Экстракцию флавоноидов проводили из сбора растительной композиции, состоящей из травы пустырника сердечного (пустырника обыкновенного) (*Leonurus cardiaca* L.), травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), травы мелиссы лекарственной (*Melissa officinalis* L.) и травы тимьяна ползучего (чабреца) (*Thymus serpyllum* L.) в соотношении 4:2,5:2,5:1, измельченных до размера частиц 2–3 мм. В качестве экстрагентов использовались ГЭР на основе холина хлорида в качестве акцептора водородной связи.

Результаты и обсуждение. В данной работе были исследованы ГЭР на основе холина хлорида на предмет способности к извлечению флавоноидов из лекарственного сбора растительной композиции на основе травы пустырника, травы зверобоя, травы мелиссы и травы чабреца, обладающей седативным действием. Также было изучено влияние содержания воды в составе ГЭР на свойства экстрагента. Количественное определение флавоноидов в пересчете на рутин проводилось методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 410 ± 2 нм. Максимальный выход флавоноидов был достигнут при использовании 50%-го водного раствора ГЭР на основе холина хлорида, глюкозы и воды в мольном соотношении 2:1:1 при температуре экстракции 60 °С.

Заключение. Извлекающая способность полученного ГЭР по эффективности экстракции флавоноидов превышает экстрагирующие характеристики классического экстрагента для исследуемой композиции – 70%-го этилового спирта. Дальнейшее изучение свойств полученного экстрагента, его физических, химических, токсикологических характеристик – задача будущих экспериментов.

Ключевые слова: глубокие эвтектические растворители (ГЭР), флавоноиды, дифференциальная спектрофотометрия, пустырник, зверобой, мелисса, чабрец, холина хлорид

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. М. А. Джавахян придумала и организовала экспериментальное исследование, поэтапный план работы, провела анализ полученных результатов. Ю. Э. Прожогина разработала технологию получения эвтектических растворителей, выполнила экстракцию, провела контроль качества. Все авторы приняли участие в обсуждении результатов и подготовке статьи.

Для цитирования: Джавахян М. А., Прожогина Ю. Э. Глубокие эвтектические растворители на основе холина хлорида как перспективные экстрагенты флавоноидов из седативной растительной композиции. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):79–86. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-79-86>

Choline Chloride Based Deep Eutectic Solvents as Promising Extractants of Flavonoids from Sedative Plant Composition

Marina A. Dzhavakhyan, Yulia E. Prozhogina ✉

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 7/1, Greena str., Moscow, 117216, Russia

✉ Corresponding author: Yulia E. Prozhogina. E-mail: yulia-pro93@mail.ru

ORCID: Marina A. Dzhavakhyan – <https://orcid.org/0000-0003-2673-6203>; Yulia E. Prozhogina – <https://orcid.org/0000-0003-4803-5133>.

Received: 18.07.2022

Revised: 20.09.2022

Published: 25.11.2022

Abstract

Introduction. Nowadays deep eutectic solvents (DESS) are the object of close attention of the scientific community in various fields, such as chemistry, biology, pharmacy, biotechnology. The areas of application of DESS vary widely, and one of them is the extraction of biologically active substances from plant raw materials.

Aim. The aim of this work was to study the possibility of extraction of flavonoids from plant raw materials with using of deep eutectic solvents based on choline chloride, as well as to compare the efficiency of their extraction with traditional solvents.

© Джавахян М. А., Прожогина Ю. Э., 2022

© Dzhavakhyan M. A., Prozhogina Yu. E., 2022

Materials and methods. The extraction of flavonoids was carried out from the collection of a plant composition consisting of the herb of motherwort cordial (common motherwort) (*Leonurus cardiaca* L.), the herb of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.), the herb of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) and the herb of creeping thyme (thyme) (*Thymus serpyllum* L.) in a ratio of 4:2.5:2.5:1, crushed to a particle size of 2–3 mm. DESs based on choline chloride as hydrogen bond acceptor were used as extractants.

Results and discussion. In this article, DESs based on choline chloride were investigated for the ability to extract flavonoids from the medicinal collection of a plant composition based on leonurus grass, hypericum grass, melissa grass and thyme grass, which has a sedative effect. The influence of the water content in DES solutions on the properties of the extractant was also studied. Quantitative determination of flavonoids in terms of rutin was carried out by differential spectrophotometry at a wavelength of 410 ± 2 nm. The maximum yield of flavonoids was achieved by using a 50 % aqueous solution of DES based on choline chloride, glucose and water in a molar ratio of 2:1:1 at an extraction temperature of 60 °C.

Conclusion. The extracting ability of the obtained DES in terms of the efficiency of flavonoid extraction exceeds the extracting characteristics of the classical extractant for the composition under study – 70 % ethanol. Further study of the properties of the obtained extractant, its physical, chemical, and toxicological characteristics is the task of future experiments.

Keywords: deep eutectic solvents (DESs), flavonoids, differential spectrophotometry, motherwort, John's wort, lemon balm, thyme, choline chloride

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Marina A. Dzhevakhyan came up with and organized an experimental study, a phased work plan, analyzed the results. Yulia E. Prozhogina developed technologies for obtaining eutectic solvents, performed extraction, carried out quality control. All authors took part in the discussion of the results and preparation of the article.

For citation: Dzhevakhyan M. A., Prozhogina Yu. E. Choline chloride based deep eutectic solvents as promising extractants of flavonoids from sedative plant composition. *Drug development & registration*. 2022;11(4):79–86. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4-79-86>

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственное растительное сырье – богатый и необыкновенно ценный источник веществ, оказывающих определенное воздействие на организм человека и обладающих различной терапевтической активностью. Компоненты фитохимического профиля, такие как флавоноиды, алкалоиды, дубильные вещества, различные гликозиды, стероиды и терпеноиды, которые содержатся в листьях и стеблях, плодах и семенах, корнях, цветках и других частях различных растений, представляют собой природные субстанции, которые в дальнейшем могут быть использованы для разработки и создания на их основе лекарственных препаратов различного терапевтического действия.

Одним из наиболее распространенных и эффективных методов получения биологически активных веществ (БАВ) из растительного материала является экстракция. Спектр применяемых экстрагентов сегодня обширен, но наиболее распространенными являются органические растворители, в частности этиловый спирт различной концентрации [1]. Однако стоит отметить существенные недостатки этанола в качестве экстрагента: он летуч, взрыво- и пожароопасен, подлежит предметно-количественному учету. Поэтому поиск новых экстрагентов для извлечения БАВ из растительного материала является актуальной задачей фармацевтической отрасли.

Глубокие эвтектические растворители (ГЭР) в научном сообществе впервые были представлены в 2011 г. [2]. Данные соединения были описаны как особый класс жидкостей, которые присутствуют в живых клетках, но в то же время отличаются от воды и жироподобных веществ. ГЭР играют важную роль в жизнедеятельности растений в качестве альтернативной среды для биосинтеза, хранения и транспорта различных биологически активных соединений. Существуют также предположения, что ГЭР необходимы для поддержания метаболизма растительной клетки в условиях недостатка воды или ее недоступности, например в периоды засухи, холода, а также других экстремальных условий [2]. ГЭР представляют собой смеси из соединений, которые имеют гораздо более низкую температуру плавления, чем у любого из отдельных компонентов. Данное уникальное свойство обеспечивается формированием межмолекулярных водородных связей [3] между составными компонентами.

ГЭР привлекают к себе повышенное внимание представителей научного мира не только из-за своих особенных физико-химических свойств (низкая температура плавления, малая летучесть, химическая и термическая стабильность, невоспламеняемость), но и из-за их устойчивых «зеленых» характеристик [3] и экологичности. Они просты в изготовлении, способны к биологическому разложению и биосовместимы с полярными и неполярными соединениями [4–7].

Трудностью, с которой приходится сталкиваться при работе с ГЭР, является их высокая вязкость, но она может быть изменена путем разбавления чистых ГЭР водой [8]. Таким образом, ГЭР могут использоваться при экстракции биологически активных соединений из растительных компонентов. Так, на данный момент уже представлены работы по извлечению фенилпропаноидов из *Rhodiola rosea* L. [9], флоротаннинов из *Fucus vesiculosus* [10] с использованием ГЭР; данные экстрагенты пригодны для одновременного извлечения гидрофильных и гидрофобных веществ [11].

Отдельно стоит упомянуть про профиль токсичности ГЭР. Несмотря на то, что они могут включать природные компоненты, некоторые из веществ могут быть токсичны для человека и животных. Например, щавелевая кислота, являющаяся высокоопасным веществом, способна образовывать эвтектические смеси, но применение таких ГЭР небезопасно. Более того, даже те глубокие эвтектические растворители, которые исходно содержат нетоксичные соединения, могут проявлять совершенно новые свойства. Так, было показано, что оценку безопасности ГЭР нельзя осуществить на основании анализа его составных компонентов, простого суммирования профиля токсичности входящих в состав ГЭР веществ; в некоторых случаях токсичность ГЭР превосходит сумму токсикологических характеристик отдельных субстанций [12]. Также показано, что степень токсичности ГЭР зависит от вязкости [13]. Все это говорит о природе ГЭР как совершенно новой, особой структуры со своими свойствами.

Несомненно, можно утверждать, что изучение глубоких эвтектических растворителей, их уникальных характеристик и возможных сфер применения – новое и стремительно развивающееся направление современной науки.

Ранее в предыдущих работах [14, 15] мы изучали глубокие эвтектические растворители различного состава на экстрагирующую способность флавоноидов из растительной композиции седативного действия. Однако некоторые из применяемых нами веществ (щавелевая кислота, ПЭГ-400, глицерин, пропиленгликоль) при дальнейшем рассмотрении на предмет применения в составе ГЭР показали свою несостоятельность. Так, ПЭГ-400, глицерин и пропиленгликоль трудноотделимы от экстрагированных биологически активных веществ, они практически не поддаются отгонке, а извлечения – очистке традиционными методами и, что наиболее важно, они не являются безопасными для человека и обладают токсическим действием на организм. Более того, ГЭР на основе щавелевой кислоты трудны в получении, неустойчивы (кристаллы щавелевой кислоты выпадают в осадок), но, что является наиболее значимым фактором, щавелевая кислота крайне токсична, даже малые ее дозы оказывают повреждающее действие на организм человека, и ее применения следует избегать. Именно поэтому целью нашей дальнейшей работы стал поиск нового ГЭР для извлечения флавоноидов из оригинального седативного сбора. В качестве ак-

цептора протонов был выбран холина хлорид. Холина хлорид запрещен в качестве добавки в пищевую и косметическую продукцию, но по данным литературы обладает высоким потенциалом к образованию экспериментальных эвтектических смесей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительный материал

Экстракцию флавоноидов проводили из сбора растительной композиции, состоящей из травы пустырника сердечного (пустырника обыкновенного) (*Leonurus cardiaca* L.), травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), травы мелиссы лекарственной (*Melissa officinalis* L.) и травы тимьяна ползучего (чабреца) (*Thymus serpyllum* L.) в соотношении 4:2,5:2,5:1, измельченных до размера частиц 2–3 мм. Лекарственные растения были доставлены из Северо-Кавказского филиала Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР). Данный сбор обладает седативными свойствами благодаря содержанию флавоноидов [16], основным из которых является рутин, что было доказано валидированными методами.

Материалы и реагенты

Холина хлорид (Мм = 139,62), молочная кислота (Мм = 90,08), глюкоза (Мм = 180,16), фруктоза (Мм = 180,16), мочевины (Мм = 60,07) и порошок рутина (≥94,0 %) предоставлены компанией Sigma Aldrich (Китай), алюминия хлорид получен от PanReac AppliChem (Испания), спирт этиловый 96 % (ООО «Константа-Фарм М», Россия), кислота уксусная ледяная (ООО ТД «АльфаХим», Россия).

Изготовление глубоких эвтектических растворителей

Глубокие эвтектические растворители были изготовлены с помощью теплового метода: компоненты смешивали в определенных соотношениях по количеству вещества (согласно мольным концентрациям), смеси в стеклянной конической колбе закрывали пробкой и нагревали на водяной бане при температуре 60 °С и постоянном перемешивании магнитной мешалкой со скоростью 1000 оборотов в минуту до тех пор, пока не образовывалась прозрачная жидкость однородной структуры, сохраняющая стабильность при комнатной температуре.

В результате эксперимента было получено 4 ГЭР различного состава, приведенного в таблице 1. Все они представляют собой жидкости, однако их вязкость, степень прозрачности и цвет различаются.

Экстракция флавоноидов из сбора растительной композиции

В качестве объекта исследования была выбрана седативная композиция, состоящая из разных видов лекарственного растительного сырья.

Таблица 1. Состав глубоких эвтектических растворителей

Table 1. Composition of deep eutectic solvents

Название Name	Компонент Component			Мольное соотношение Molar ratio	Описание Description
	1	2	3		
ГЭР 1 DES 1	Холина хлорид Choline chloride	Молочная кислота Lactic acid	–	1:2	Прозрачная жидкость желто-оранжевого цвета Transparent yellow-orange liquid
ГЭР 2 DES 2	Холина хлорид Choline chloride	Глюкоза Glucose	Вода H ₂ O	2:1:1	Прозрачная жидкость светло-желтого цвета Transparent liquid of light yellow color
ГЭР 3 DES 3	Холина хлорид Choline chloride	Мочевина Urea	–	1:2	Прозрачная бесцветная жидкость Transparent colorless liquid
ГЭР 4 DES 4	Холина хлорид Choline chloride	Фруктоза Fructose	Вода H ₂ O	2:1:1	Прозрачная жидкость светло-коричневого цвета Transparent liquid of light brown color

Экстракция флавоноидов из растительного сбора осуществлялась согласно следующей методике:

Около 2 г (точная навеска) исследуемой растительной композиции помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляли 30 мл определенного экстрагента. Колбу закрывали пробкой, нагревали при температуре 60 °С в течение 60 мин при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки со скоростью вращения магнитного якоря 1000 оборотов в минуту. После окончания экстракции колбу охлаждали до комнатной температуры, полученное извлечение фильтровали для дальнейшего анализа.

Условия экстрагирования

Все извлечения на основе ГЭР были получены в одинаковых условиях: отношение сырье:экстрагент 1:15 г/мл, время экстракции 60 мин, температура экстракции 60 °С.

Количественное определение

Для количественного определения действующих веществ (суммы флавоноидов в пересчете на рутин) в полученных извлечениях мы использовали метод дифференциальной спектрофотометрии. В основе данного аналитического метода лежит химическая реакция комплексообразования между ионами металла (алюминия Al³⁺) и активными группами молекулы флавоноидов. Образуется хелатный комплекс с максимальной полосой поглощения при длинах волн 390–410 нм, и это дает возможность оценить концентрацию биологически активных веществ по оптической плотности растворов в данной конкретной области спектра.

К раствору изучаемого извлечения добавляли 5%-й раствор алюминия хлорида в 70%-м этиловом спирте. В результате чего образовывался оптически активный окрашенный комплекс с максимумом поглощения на длине волны 410 ± 2 нм, что совпадает с максимумом поглощения стандартного раствора рутина. Данное обстоятельство и определило выбор

вышеприведенной длины волны как характеристической для полученных на основе ГЭР извлечений.

Измерения оптической плотности были выполнены на спектрофотометре UV-1800 (Shimadzu, Япония).

Статистический анализ

Все эксперименты проводились в трех повторностях. Статистическую обработку осуществляли с использованием программного пакета STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., США). Статистически значимыми признавались различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние состава ГЭР на процесс экстракции флавоноидов

Влияние состава ГЭР на эффективность экстракции БАВ из растительной композиции седативного действия была продемонстрирована проведенным экспериментом. Вязкость изготовленных ГЭР снижена их разбавлением 50 % воды в массовом отношении. В качестве акцептора протона во всех используемых ГЭР выступал холина хлорид.

Как было продемонстрировано ранее [17], экстрагирующая способность ГЭР зависит от их состава, в частности от определенного донора протонов. Одним из многочисленных факторов, влияющих на свойства образующегося ГЭР, является способность одного из его компонентов отдавать H⁺. Это зависит от химической структуры молекулы определенного вещества. Структурные формулы компонентов ГЭР представлены на рисунке 1.

Другим немаловажным фактором является pH образующегося ГЭР. Целевые экстрагируемые соединения – флавоноиды. Данные вещества с химической точки зрения являются гидроксипроизводными флавона. Флавоны с восстановленной карбонильной группой (флавонолы), за счет наличия свободных фенольных гидроксильных групп, обладают слабыми кислотными свойствами, следовательно, они хорошо растворимы в растворах щелочей. Из этого следует, что ГЭР, имеющие большее значение pH (менее кис-

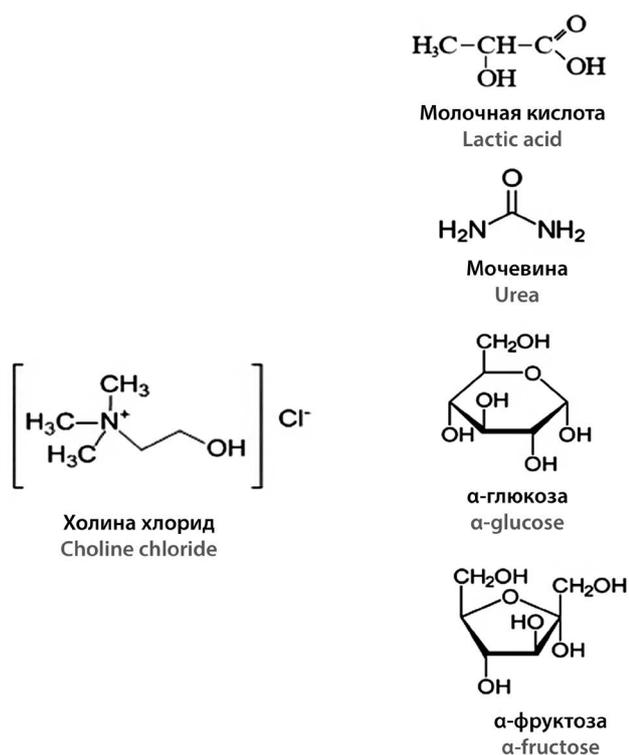


Рисунок 1. Структурные формулы компонентов ГЭР, используемых в данной работе

Figure 1. Structural formulas of DESs components used in this work

люю среду), должны эффективнее извлекать флавоноиды из растительного материала. Таким образом, ГЭР, сочетающий в себе оптимальные физико-химические свойства, сбалансированные характеристики

кислотности среды и способности к отдаче протонов, будет являться наилучшим экстрагентом для выбранной растительной композиции.

Как видно из результатов проведенного эксперимента (таблица 2, рисунок 2), оптимальным экстрагентом для извлечения флавоноидов из седативной растительной композиции является ГЭР 2, состоящий из холина хлорида, глюкозы и воды в мольном соотношении 2:1:1. 50%-й водный раствор данного ГЭР способен извлечь $13,04 \pm 0,23$ мг/г сухого сырья флавоноидов в пересчете на рутин, что составляет 123 % от содержания флавоноидов в водно-этанольном (70 %) извлечении, взятом в качестве стандарта.

Таблица 2. Влияние состава ГЭР на выход флавоноидов

Table 2. The effect of the DES composition on the yield of flavonoids

Включенный ГЭР Included DES	Выход флавоноидов в пересчете на рутин (мг/г сухого сырья) Extracted amount of flavonoids in terms of rutin (mg/g of dry raw materials)
ГЭР 1 DES 1	$9,22 \pm 0,13$
ГЭР 2 DES 2	$13,04 \pm 0,23$
ГЭР 3 DES 3	$8,57 \pm 0,11$
ГЭР 4 DES 4	$7,87 \pm 0,15$
Спирт этиловый 70%-й Ethanol 70 %	$10,60 \pm 0,80$
Спирт этиловый 96%-й Ethanol 96 %	$7,10 \pm 0,46$
Вода H ₂ O	$3,50 \pm 0,24$

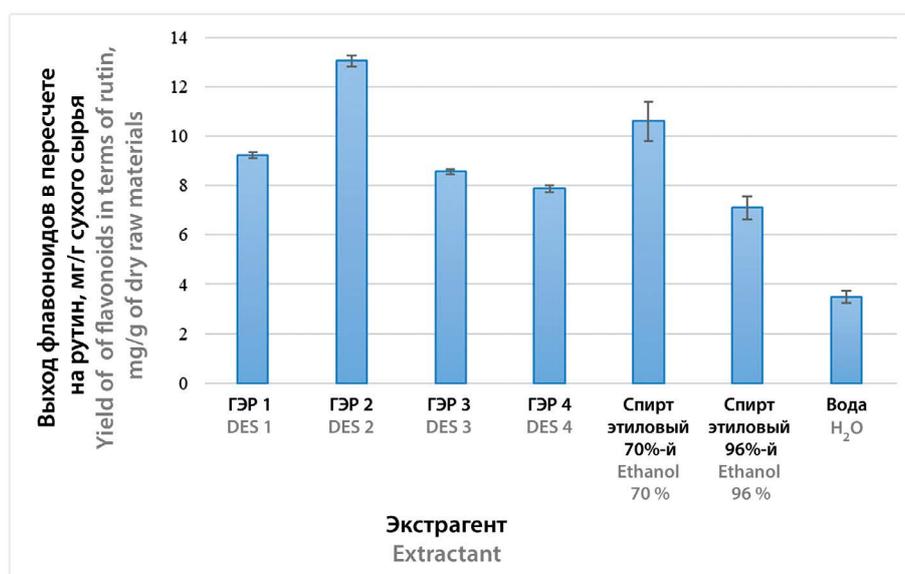


Рисунок 2. Содержание флавоноидов (мг/г), экстрагируемых из растительного сбора с помощью 50%-х водных растворов ГЭР (м/м)

Figure 2. The content of flavonoids (mg/g) extracted from plant collection with 50 % aqueous solutions of DES (m/m)

Влияние содержания воды в составе растворителя на эффективность экстракции БАВ

В связи с тем, что образовавшиеся ГЭР обладают высокой вязкостью, они не могут в нативном виде быть использованы в качестве экстрагента биологически активных веществ из лекарственного растительного сырья из-за ограничения смачивания компонентов жидкостью и малой скорости диффузии. На основании этого нами были изготовлены водные растворы наиболее оптимального экстрагента – ГЭР 2 – различного соотношения эвтектический растворитель: вода (по массе) и исследованы на предмет способности к извлечению БАВ из растительной седативной композиции.

Как видно из результатов эксперимента, с разбавлением ГЭР до определенного значения эффективность экстракции возрастает. Данный феномен можно объяснить уменьшением вязкости растворителя, ведь согласно уравнению Стокса – Эйнштейна:

$$D = kT/6\pi\eta R,$$

где D – коэффициент диффузии; k – постоянная Больцмана; T – абсолютная температура; η – вязкость среды; R – гидродинамический радиус молекулы.

С уменьшением вязкости скорость диффузии возрастает.

Но при последующем добавлении воды можно наблюдать резкое снижение экстрагирующей способности раствора ГЭР, что связано с разрушением надмолекулярной структуры ГЭР и разрывом водородных связей между донором и акцептором H^+ .

Результаты зависимости экстрагирующей способности ГЭР от процентного содержания воды в экстрагенте представлены на рисунке 3 и отражены в таблице 3.

Как видно из проведенного эксперимента, оптимальное содержание воды в составе растворителя – 50 %.

Таблица 3. Влияние содержания воды в составе растворителя на выход флавоноидов

Table 3. Effect of the water content in the solvent composition on the yield of flavonoids

Включенный ГЭР Included DES	Содержание воды в составе растворителя (m/m), % Water content in the solvent composition (m/m), %	Выход флавоноидов в пересчете на рутин (мг/г сухого сырья) Extracted amount of flavonoids in terms of rutin (mg/g of dry raw materials)
ГЭР 2 (холина хлорид, глюкоза, вода) DES 2 (choline chloride, glucose, H ₂ O)	10	4,81 ± 0,16
	30	9,11 ± 0,23
	50	13,04 ± 0,4
	70	5,49 ± 0,31

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенной работы нами было получено 4 глубоких эвтектических растворителя на основе холина хлорида как акцептора протонов. В качестве наиболее эффективного экстрагента флавоноидов из сбора растительной композиции седативного действия, состоящей из травы пустырника, травы зверо-

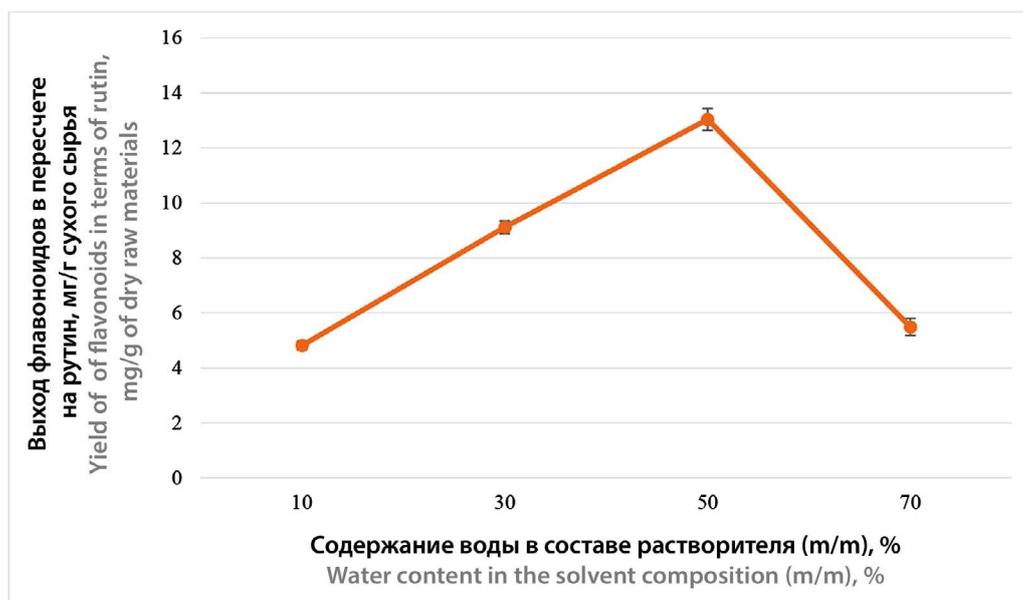


Рисунок 3. Зависимость извлекающей способности ГЭР 2 от содержания воды

Figure 3. Dependence of the extracting capacity of DES 2 on the water content

боя, травы мелиссы и травы чабреца, был выбран ГЭР, состоящий их холина хлорида, глюкозы и воды в мольном соотношении 2:1:1. Изучение влияния содержания воды в составе экстрагента на процесс экстракции позволило установить оптимальную вязкость данного растворителя. Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в полученном извлечении составило 13,04 мг/г сухого сырья, что превышает выход флавоноидов при классическом методе экстракции 70%-м этиловым спиртом (10,6 мг/г сухого сырья). На основании вышесказанного можно прийти к заключению, что новый способ извлечения флавоноидов из растительного сырья перспективен. Однако ввиду того, что свойства и токсикологический профиль ГЭР изучены крайне мало (так, например, уже были продемонстрированы токсические эффекты ГЭР на основе холина хлорида и глюкозы, холина хлорида и фруктозы [13], холина хлорида и мочевины [18] в моделях на животных), необходимо дальнейшее исследование данного уникального класса экстрагентов, которые пока не могут применяться без дальнейшего отделения экстрагента от целевых соединений.

ЛИТЕРАТУРА

- Abubakar A. R., Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2020;12:1–10. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- Choi Y. H., van Spronsen J., Dai Y., Verberne M., Hollmann F., Arends I. W. C. E., Witkamp G.-J., Verpoorte R. Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *Plant Physiology*. 2011;156(4):1701–1705. DOI: 10.1104/pp.111.178426.
- Dai Y., van Spronsen J., Witkamp G.-J., Verpoorte R., Choi Y. H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*. 2013;766:61–68. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.019.
- Castro V. I. B., Mano F., Reis R. L., Paiva A., Rita A., Duarte C. Synthesis and Physical and Thermodynamic Properties of Lactic Acid and Malic Acid-Based Natural Deep Eutectic Solvents. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2018; 63(7):2548–2556. DOI: 10.1021/acs.jced.7b01037.
- Mulia K., Adam D., Zahrina I., Krisanti E. A. Green extraction of palmitic acid from palm oil using betaine-based Natural Deep Eutectic Solvents. *International Journal of Technology*. 2018;9(2):335–344. DOI: 10.14716/ijtech.v9i2.1008.
- Dai Y., Witkamp G.-J., Verpoorte R., Choi Y. H. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chem*. 2015;187:14–19. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.123.
- Craveiro R., Aroso I., Flammia V., Carvalho T., Viciosa M. T., Dionísio M., Barreiros S., Reis R. L., Duarte A. R. C., Paiva A. Properties and thermal behavior of natural deep eutectic solvents. *J. Mol. Liq.* 2016;215:534–540. DOI: 10.1016/j.molliq.2016.01.038.
- Savi L. K., Carpiné D., Waszczynskyj N., Ribani R. H., Haminiuk C. W. I. Influence of temperature, water content and type of organic acid on the formation, stability and properties of functional natural deep eutectic solvents. *Fluid Phase Equilibria*. 2019;488:40–47. DOI: 10.1016/j.fluid.2019.01.025
- Shikov A. N., Kosman V. M., Flissyuk E. V., Smekhova I. E., Elameen A., Pozharitskaya O. N. Natural Deep Eutectic Solvents for the Extraction of Phenyletanes and Phenylpropanoids of *Rhodiola rosea* L. *Molecules*. 2020;25:1826. DOI: 10.3390/molecules25081826.
- Obluchinskaya E. D., Daurtseva A. V., Pozharitskaya O. N., Flissyuk E. V., Shikov A. N. Natural Deep Eutectic Solvents as Alternatives for Extracting Phlorotannins from Brown Algae. *Pharm Chem J*. 2019;53:243–247. DOI: 10.1007/s11094-019-01987-0.
- Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Zakharova L. V., Daurtseva A. V., Flissyuk E. V., Shikov A. N. Efficacy of Natural Deep Eutectic Solvents for Extraction of Hydrophilic and Lipophilic Compounds from *Fucus vesiculosus*. *Molecules*. 2021;26:4198. DOI: 10.3390/molecules26144198.
- Hayyan M., Looi C. Y., Hayyan A., Wong W. F., Hashim M. A. In vitro and in vivo toxicity profiling of ammonium-based deep eutectic solvents. *PLoS ONE*. 2015;10(2):e0117934. DOI: 10.1371/journal.pone.0117934.
- Mbous Y. P., Hayyan M., Wong W. F., Looi C. Y., Hashim M. A. Unraveling the cytotoxicity and metabolic pathways of binary natural deep eutectic solvent systems. *Sci. Rep.* 2017;7:41257. DOI: 10.1038/srep41257.
- Джавахан М. А., Прожогина Ю. Э., Павельева О. К., Каленикова Е. И. Природные глубокие эвтектические растворители как альтернативные экстрагенты флавоноидов из растительного сбора седативного действия. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(3):75–83. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-3-75-83.
- Prozhogina Y. E., Dzhavakhyan M. A. Natural deep eutectic solvents as alternative flavonoid extractants from the sedative plant composition. From Plant Biochemistry to Human Biochemistry: International scientific conference. Moscow. June 16–17, 2022. Moscow: "All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants"; 2022. 289–295. DOI: 10.52101/9785870191041_289.
- Токарева М. Г., Прожогина Ю. Е., Каленикова Е. И., Джавахан М. А. Фармакогностические и фармакологические аспекты создания новых седативных препаратов на основе лекарственного растительного сырья. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2018;21(3):3–11. DOI: 10.29296/25877313-2018-03-01.
- Liu Y., Friesen J. B., McAlpine J. B., Lankin D. C., Chen S. N., Pauli G. F. Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives. *J Nat Prod*. 2018;81(3):679–690. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00945.
- Jung D., Jung J., Kang S., Li K., Hwang I., Jeong J. H., Kim H. S., Lee J. Toxicometabolomics study of a deep eutectic solvent comprising choline chloride and urea suggests in vivo toxicity involving oxidative stress and ammonia stress. *Green Chem*. 2021;23:1300–1311. DOI: 10.1039/D0GC03927F.

REFERENCES

- Abubakar A. R., Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2020;12:1–10. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- Choi Y. H., van Spronsen J., Dai Y., Verberne M., Hollmann F., Arends I. W. C. E., Witkamp G.-J., Verpoorte R. Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *Plant Physiology*. 2011;156(4):1701–1705. DOI: 10.1104/pp.111.178426.
- Dai Y., van Spronsen J., Witkamp G.-J., Verpoorte R., Choi Y. H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*. 2013;766:61–68. DOI: 10.1016/j.aca.2012.12.019.
- Castro V. I. B., Mano F., Reis R. L., Paiva A., Rita A., Duarte C. Synthesis and Physical and Thermodynamic Properties of Lactic Acid and Malic Acid-Based Natural Deep Eutectic Solvents. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2018; 63(7):2548–2556. DOI: 10.1021/acs.jced.7b01037.
- Mulia K., Adam D., Zahrina I., Krisanti E. A. Green extraction of palmitic acid from palm oil using betaine-based Natural Deep Eutectic Solvents. *International Journal of Technology*. 2018;9(2):335–344. DOI: 10.14716/ijtech.v9i2.1008.

6. Dai Y., Witkamp G.-J., Verpoorte R., Choi Y.H. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chem.* 2015;187:14–19. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.123.
7. Craveiro R., Aroso I., Flammia V., Carvalho T., Viciosa M. T., Dionísio M., Barreiros S., Reis R. L., Duarte A. R. C., Paiva A. Properties and thermal behavior of natural deep eutectic solvents. *J. Mol. Liq.* 2016;215:534–540. DOI: 10.1016/j.molliq.2016.01.038.
8. Savi L. K., Carpiné D., Waszczynskij N., Ribani R. H., Haminiuk C. W. I. Influence of temperature, water content and type of organic acid on the formation, stability and properties of functional natural deep eutectic solvents. *Fluid Phase Equilibria.* 2019;488:40–47. DOI: 10.1016/j.fluid.2019.01.025
9. Shikov A. N., Kosman V. M., Flissyuk E. V., Smekhova I. E., Elameen A., Pozharitskaya O. N. Natural Deep Eutectic Solvents for the Extraction of Phenyletanes and Phenylpropanoids of *Rhodiola rosea* L. *Molecules.* 2020;25:1826. DOI: 10.3390/molecules25081826.
10. Obluchinskaya E. D., Daurtseva A. V., Pozharitskaya O. N., Flissyuk E. V., Shikov A. N. Natural Deep Eutectic Solvents as Alternatives for Extracting Phlorotannins from Brown Algae. *Pharm Chem J.* 2019;53:243–247. DOI: 10.1007/s11094-019-01987-0.
11. Obluchinskaya E. D., Pozharitskaya O. N., Zakharova L. V., Daurtseva A. V., Flissyuk E. V., Shikov A. N. Efficacy of Natural Deep Eutectic Solvents for Extraction of Hydrophilic and Lipophilic Compounds from *Fucus vesiculosus*. *Molecules.* 2021;26:4198. DOI: 10.3390/molecules26144198.
12. Hayyan M., Looi C. Y., Hayyan A., Wong W. F., Hashim M. A. In vitro and in vivo toxicity profiling of ammonium-based deep eutectic solvents. *PLoS ONE.* 2015;10(2):e0117934. DOI: 10.1371/journal.pone.0117934.
13. Mbous Y. P., Hayyan M., Wong W. F., Looi C. Y., Hashim M. A. Unraveling the cytotoxicity and metabolic pathways of binary natural deep eutectic solvent systems. *Sci.Rep.* 2017;7:41257. DOI: 10.1038/srep41257.
14. Dzhavakhyan M. A., Prozhogina Y. E., Pavelieva O. K., Kalenikova E. I. Natural Deep Eutectic Solvents as Alternative Flavonoid Extractants from the Sedative Plant Composition. *Drug development & registration.* 2022;11(3):75–83. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-3-75-83.
15. Prozhogina Y. E., Dzhavakhyan M. A. Natural deep eutectic solvents as alternative flavonoid extractants from the sedative plant composition. From Plant Biochemistry to Human Biochemistry: International scientific conference. Moscow. June 16–17, 2022. Moscow: "All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants"; 2022. 289–295. DOI: 10.52101/9785870191041_289.
16. Tokareva M. G., Prozhogina Y. E., Kalenikova E. I., Dzhavakhyan M. A. The pharmacognostic and pharmacological aspects of the creating of the new sedative drugs based on medicinal plant raw materials. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry.* 2018;21(3):3–10. (In Russ.) DOI: 10.29296/25877313-2018-03-01.
17. Liu Y., Friesen J. B., McAlpine J. B., Lankin D. C., Chen S. N., Pauli G. F. Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives. *J Nat Prod.* 2018;81(3):679–690. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.7b00945.
18. Jung D., Jung J., Kang S., Li K., Hwang I., Jeong J. H., Kim H. S., Lee J. Toxicometabolomics study of a deep eutectic solvent comprising choline chloride and urea suggests in vivo toxicity involving oxidative stress and ammonia stress. *Green Chem.* 2021;23:1300–1311. DOI: 10.1039/D0GC03927F.