

УДК 615.322:54.05

Н. А. КОВАЛЕНКО<sup>1</sup>, А. В. ЯНЦЕВИЧ<sup>2</sup>, Г. Н. СУПИЧЕНКО<sup>1</sup>, В. Н. ЛЕОНТЬЕВ<sup>1</sup>

### ВЛИЯНИЕ ВИДА СЫРЬЯ И УСЛОВИЙ ОБРАБОТКИ НА СОДЕРЖАНИЕ ГИПЕРИЦИНА В ЭКСТРАКТАХ ТРАВЫ ЗВЕРОБОЯ (*HYPERICUM*)

<sup>1</sup>Белорусский государственный технологический университет, Минск, e-mail: chembstu.rambler.ru,  
<sup>2</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси

(Поступила в редакцию 02.10.2014)

**Введение.** Растения семейства *Hypericum* и препараты из них широко используются в современной медицине в качестве антибактериальных, противовоспалительных, антидепрессантных и фотосенсибилизирующих лекарственных средств [1].

Основными биологически активными веществами травы зверобоя являются флавоноиды, производные антрацена, флюороглюцины, дубильные вещества, эфирное масло [2]. Уникальные и наиболее ценные биологически активные соединения травы зверобоя – производные антрацена, представленные гиперипицином и его изомерными формами. По литературным данным [3–6], содержание гиперипицина в растениях семейства *Hypericum* L. в существенной степени зависит от вида зверобоя, климатических и географических условий их произрастания и ряда других факторов. Поскольку трава зверобоя широко распространена на территории Республики Беларусь, она может служить доступным и дешевым сырьем для извлечения гиперипицина.

Цель настоящей работы – изучение влияния вида растительного сырья и условий экстракции на степень извлечения гиперипицина из травы зверобоя.

**Материалы и методы исследования.** В работе были использованы воздушно-сухие образцы надземной части зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* L. (сорт Янтарь), зверобоя олимпийского *Hypericum olympicum* L., зверобоя густоцветкового *Hypericum densiflorum* L. Растительное сырье было получено на интродукционных участках Центрального ботанического сада НАН Беларуси в 2012 г. Сбор надземной части образцов травы зверобоя осуществляли в фазу цветения в период с июня по август с соблюдением общих правил сбора лекарственных растений.

Экстракты получали с применением двухфазной системы растворителей при комнатной температуре и непрерывном перемешивании в течение 90 мин. В качестве экстрагирующей системы использовали смесь растворителей – хлороформ : этанол : вода (8 : 10 : 10) [6]. Подготовку и очистку растворителей осуществляли по традиционным методикам [7]. Дубильные вещества из экстрактов зверобоя осаждали добавлением 1%-ного водного раствора желатины (Serva).

Качественный и количественный анализ гиперипицина в экстрактах проводили методами электронной спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В качестве стандартного образца использовали гиперипицин производства Carl Roth GmbH (Германия). Спектрофотометрический анализ проводили на приборах ПЭ-5400УФ и Solar CM2203, ВЭЖХ-анализ – с использованием хроматографа Accela, оснащенного диодно-матричным детектором.

**Результаты и их обсуждение.** С целью выявления наиболее перспективного растительного сырья отечественного происхождения было проведено спектрофотометрическое изучение экстрактов из травы зверобоя различных видов.

Анализ литературных данных [4–6, 8] и полученных нами электронных спектров поглощения показал, что спектры стандартного раствора гиперипицина и растворов экстрактов зверобоя носят сходный характер. В спектрах присутствуют полосы поглощения в УФ и видимой областях, однако интенсивность этих полос в стандартном растворе гиперипицина и образцах экстрактов различается.

В спектре стандартного раствора наиболее интенсивной является полоса с максимумом  $\lambda \approx 590$  нм. Интенсивное поглощение экстрактов в УФ-области представляет собой наложение полос поглощения как гиперического, так и сопутствующих соединений. Поэтому при расчете концентрации гиперического в экстрактах зверобоя использовали в качестве аналитической длину волны  $\lambda \approx 590$  нм.

На основании значения молярного коэффициента поглощения стандартного раствора гиперического при  $\lambda \approx 590$  нм были рассчитаны концентрации антраценпроизводных в полученных извлечениях в расчете на гиперичесин (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Содержание гиперического в экстрактах некоторых видов *Hypericum L.* по данным электронной спектроскопии ( $\lambda \approx 590$  нм)

Вид зверобоя	Содержание гиперического, мас.%
<i>Hypericum perforatum L.</i>	0,84
<i>Hypericum olympicum L.</i>	0,15
<i>Hypericum densiflorum L.</i>	0,06

Согласно данным табл. 1, наибольшее содержание гиперического наблюдается в траве зверобоя продырявленного. Остальные виды зверобоя существенно уступают по этому показателю *Hypericum perforatum L.*

С целью получения препаратов с более высоким содержанием гиперического проведены исследования по выбору и оптимизации условий последующей очистки экстракта зверобоя продырявленного.

Известно [9], что дубильные вещества, входящие в состав экстрактов зверобоя, можно удалять обработкой различными растворителями с последующим выпариванием экстрактов и обработкой последних ацетатом меди или свинца, хлоридом натрия и другими реагентами. Однако тяжелые металлы являются токсичными и их использование для обогащения экстрактов зверобоя гиперичесином недопустимо.

С целью очистки экстракта нами предложен эффективный способ удаления дубильных веществ с использованием водных растворов желатины. Проведенные исследования позволили выбрать оптимальные условия обработки, включающие обработку экстракта 1%-ным раствором желатины в объемном соотношении 8–25 : 1. Выпавший осадок комплекса дубильных веществ впоследствии удаляют центрифугированием. Эффективность удаления подтверждается изменениями электронных спектров поглощения растворов экстрактов до и после обработки раствором желатины, в частности снижением поглощения в коротковолновой области спектра (рис. 1).

По литературным данным [10], гиперичесин растворим в большинстве органических растворителей, в воде растворяется только при высоких значениях pH.

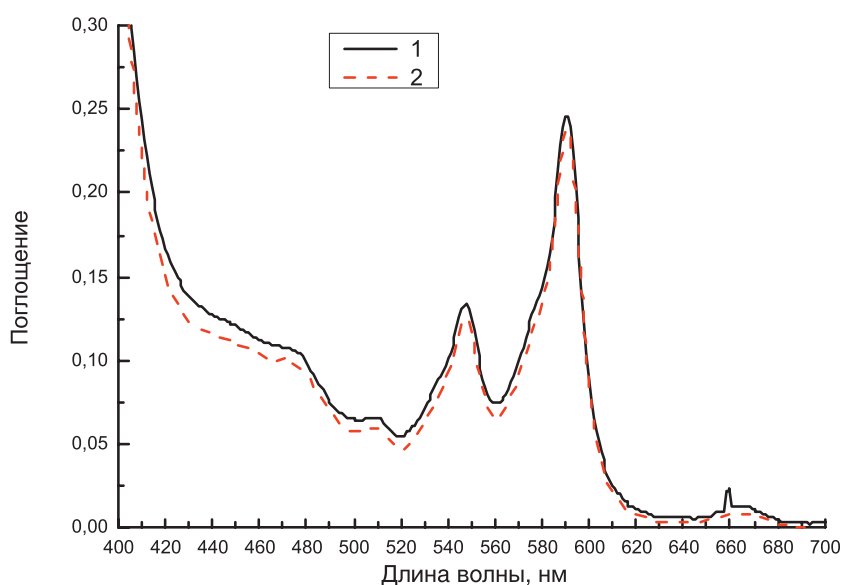
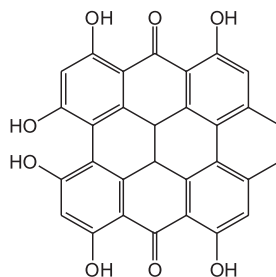


Рис. 1. Электронные спектры поглощения экстракта до (1) и после обработки раствором желатины (2)

В молекуле гиперидина присутствуют как кислотные, так и основные функциональные группы. При этом значения  $pK_a$  гидроксильных групп зависят от их положения:



Для соседних групп  $pK_a = 1,8$ , в то время как для гидроксильных, располагающихся в соседних с карбонилем положениях,  $pK_a = 9,2$ . Поэтому соседние гидроксильные группы обладают более высокой способностью к отщеплению протонов и образуют в щелочной среде соответствующие анионы гиперидина.

Исходя из различий кислотно-основных свойств гиперидина и примесных компонентов, мы предложили схему дальнейшего обогащения экстракта гиперидином, заключающуюся в следующем.

После удаления комплекса дубильных веществ и вакуумной концентрации раствора при температуре ниже  $45\text{ }^\circ\text{C}$  экстракт зверобоя продырявленного растворяли в 0,2%-ном водном растворе аммиака. После центрифугирования окрашенный фильтрат, содержащий гиперидин, обрабатывали муравьиной кислотой до  $pH = 2-3$ . Темно-синий осадок гиперидина после повторного переосаждения отделяли центрифугированием и к сухому остатку добавляли хлористый метилен, в котором гиперидин не растворяется. Для контроля содержания гиперидина продукты, полученные на каждой стадии обработки, растворяли в этаноле (табл. 2) и регистрировали их электронные спектры поглощения (рис. 2).

Т а б л и ц а 2. Характеристика экстракта на различных стадиях обработки

Номер фракции	Вид обработки экстракта
1	Этанольный раствор после отделения дубильных веществ
2	Этанольный раствор аммиачного экстракта
3	Фильтрат в этаноле после обработки муравьиной кислотой
4	Раствор осадка в этаноле после осаждения муравьиной кислотой
5	Фильтрат в этаноле после повторного переосаждения из аммиачного раствора
6	Этанольный раствор осадка после обработки хлористым метиленом

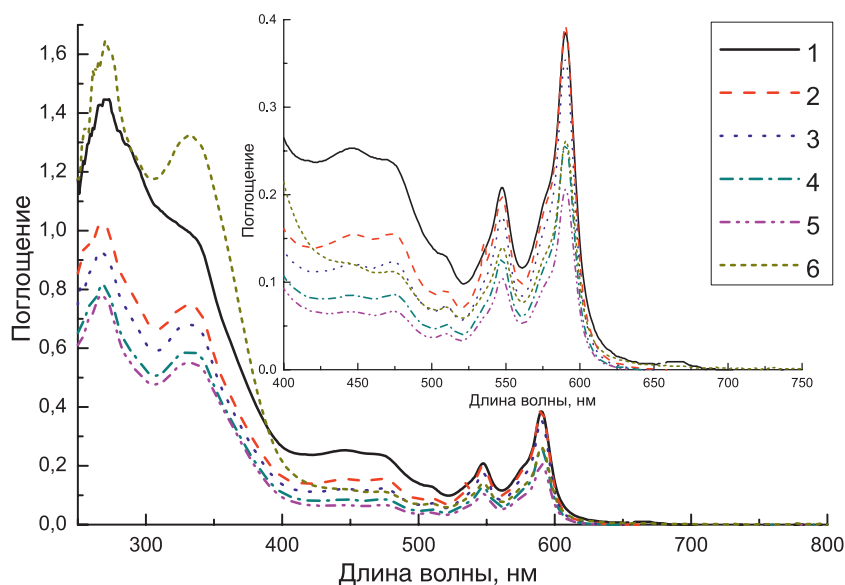


Рис. 2. Электронные спектры поглощения экстракта (табл. 2) после различных обработок

На основании значения молярного коэффициента поглощения стандартного образца гиперидина при  $\lambda \approx 590$  нм в полученных фракциях были рассчитаны концентрации этого соединения (табл. 3).

Т а б л и ц а 3. Влияние вида обработки на содержание гиперидина в экстракте

Номер фракции	Вид обработки	Содержание гиперидина, мас. %
1	После обработки раствором желатины	1,07
2	После экстракции раствором аммиака	2,98
6	После обработки раствором муравьиной кислоты и хлористым метиленом	5,91

Подтверждением спектрофотометрических данных являются результаты ВЭЖХ экстракта зверобоя до (рис. 3, а) и после проведения очистки (рис. 3, б). Пики со временем удерживания

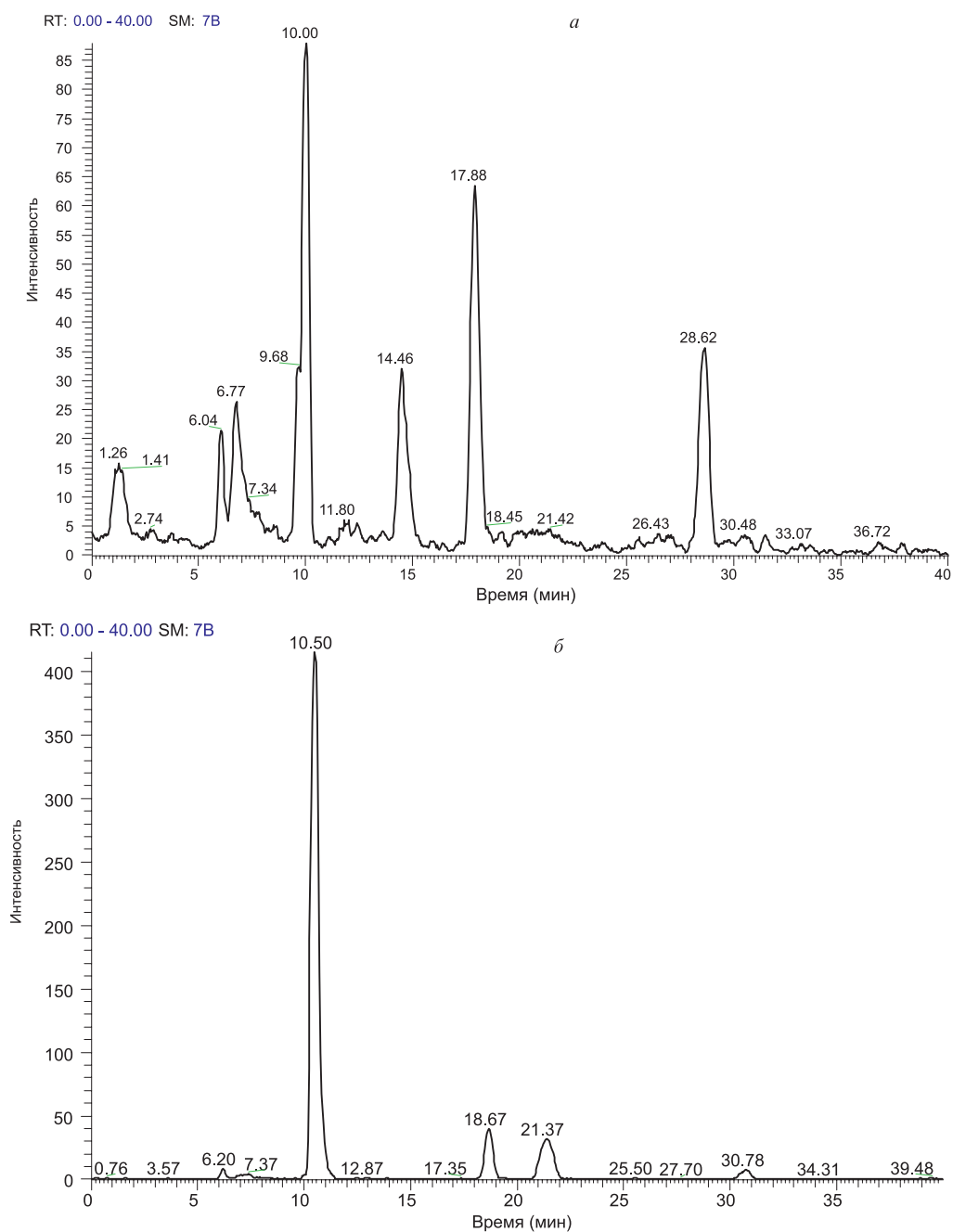


Рис. 3. ВЭЖХ-хроматограммы этанольных растворов неочищенного экстракта (а) и после его очистки (б)

около 10 мин (длина волны детекции 590 нм) соответствуют гиперину. Сравнение ВЭЖХ-хроматограмм показывает высокую эффективность предложенной схемы очистки экстракта зверобоя продырявленного.

**Заключение.** Наиболее перспективным растительным сырьем отечественного происхождения является трава зверобоя продырявленного. Обработка экстрактов *Hypericum perforatum* L. по предложенной схеме позволяет получать препараты с содержанием гиперина не менее 5 мас.%.

## Литература

1. Георгиевский В. П., Комиссаренко Н. Ф., Дмитрук С. Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск, 1990. С. 238–242.
2. Куркин В. А. Фармакогнозия: Учебник для фармац. вузов. 2-е изд., перераб. и доп. Самара, 2007.
3. Bruni R., Sacchetti G. // *Molecules*. 2009. Vol. 14. P. 682–725.
4. Правдивцева О. Е., Куркин В. А. // *Химия растит. сырья*. 2009. № 1. С. 79–82.
5. Kitapon M. K. // *Biochem. Syst. Ecol.* 2001. Vol. 29. P. 171–178.
6. Сорокин В. В., Каухова И. Е., Вайнштейн В. А. // *Фармация*. 2007. № 4. С. 34–35.
7. Perrin D. D., Armarego W. L. F., Perrin D. R. Purification of laboratory chemicals. Oxford, etc.: Perg. Press, 1986.
8. Куркин В. А., Правдивцева О. Е., Зимица Л. Н. // *Фармация*. 2007. № 4. С. 12–14.
9. Химический анализ лекарственных растений: Учеб. пособие для фармац. вузов / Е. Я. Ладыгина и др.; под ред. Н. И. Гринкевич. М., 1983. С. 70–81.
10. Vano G. // *J. Phys. Chem. B*. 2011. Vol. 115, N 10. P. 2417–2423.

N. A. KAVALENKA, A. V. YANTSEVICH, H. M. SUPICHENKA, V. N. LEONTIEV

### THE INFLUENCE OF RAW MATERIAL TYPE AND TREATMENT CONDITIONS ON THE HYPERICIN CONTENT IN ST. JOHN' WORTH EXTRACTS

#### Summary

It was found that the most promising raw materials of domestic origin for the isolation of hypericin is the herb St. John's worth. An effective scheme of purification of *Hypericum perforatum* extracts, allowing in optimal conditions to obtain drugs with hypericin content of not less than 5 wt.% , was proposed.