

УДК 542.61

О. В. Стасевич, кандидат химических наук, старший преподаватель (БГТУ);
Н. А. Коваленко, кандидат химических наук, доцент (БГТУ);
Г. Н. Супиченко, кандидат химических наук, ассистент (БГТУ);
В. Н. Леонтьев, кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой (БГТУ)

ЭКСТРАКЦИОННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ГИПЕРИЦИНОВ ИЗ НЕКОТОРЫХ СОРТОВ ТРАВЫ ЗВЕРОБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО

В данной работе был разработан эффективный способ выделения гиперфицинов из травы зверобоя, включающий в себя проведение экстракции в аппарате Сокслета и использование этанола в качестве растворителя. Были выявлены сорта зверобоя продырявленного, произрастающие в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси, наиболее богатые гиперфицинами, которые могут быть использованы в качестве материала для создания фитопрепаратов и лекарственных средств для лечения онкологических заболеваний методом фотодинамической терапии.

In this work the effective mode of isolation of hypericins from St. John's Wort including Soxhlet extraction with ethanol have been carried out. The kinds of St. John's Wort, which contain the most amounts of hypericins, cultivated in Central Botanical Garden of the NAS of Belarus, were found out. They could be used as material for producing of phytopreparations and drugs for treating of oncological diseases by the method of photodynamic therapy.

Введение. Гиперфицины являются красными пигментами зверобоя и представляют собой конденсированные производные антрахинона. Данные соединения в своем составе имеют хромофорную группу атомов, благодаря чему могут широко применяться в качестве фотосенсибилизаторов при лечении онкологических заболеваний методом фотодинамической терапии [1]. В зверобое обнаружено два красных пигмента – гиперфицин и псевдогиперфицин. Структуры этих соединений представлены на рисунке.

Гиперфицин и псевдогиперфицин локализованы в желёзках цветков, листьев и стеблей растений, однако некоторые авторы сообщают их присутствие и в клеточном соке. Содержание гиперфицинов в зверобое составляет от 0,03 до 0,34%, что делает его потенциальным источником для выделения данных соединений [2].

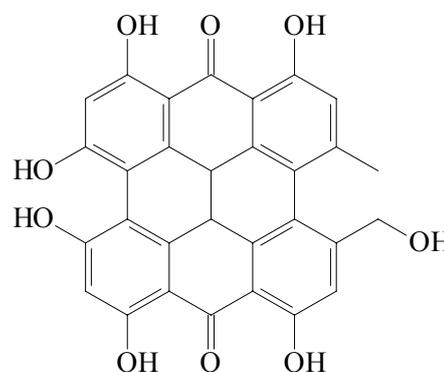
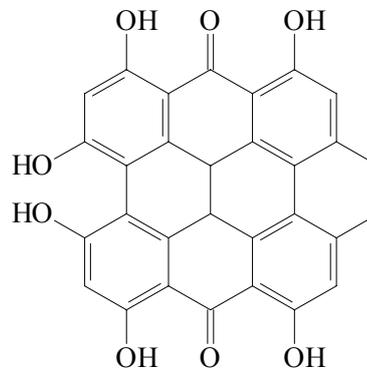
Основная часть. Цель данной работы – подбор оптимальных условий для экстракционного выделения гиперфицинов из некоторых сортов травы зверобоя продырявленного.

Для подбора растительного материала в целях дальнейшего выделения гиперфицинов были проанализированы 4 сорта зверобоя, произрастающих в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси.

Наиболее эффективным методом выделения природных соединений из растительного сырья, в том числе и гиперфицинов, является экстракционный способ, заключающийся в переводе веществ из растительного материала в раствор соответствующим растворителем.

Существует большое разнообразие методов экстракции, которые применяют не только для

выделения биологически активных соединений из растительного сырья, но и для разделения смеси веществ и очистки индивидуальных органических соединений от примесей. Наиболее часто применяют простые в исполнении и результативные методы: мацерация, дигерирование, перколяция, перфорация [3, 4].



Структурные формулы гиперфицина (1) и псевдогиперфицина (2)

При определении наиболее эффективного растворителя для выделения гиперцинов из травы зверобоя была проведена экстракция методом мацерации в течение 10 суток в темноте при комнатной температуре. В качестве растворителей использовали этанол, ацетон, бутанон-2, циклогексанон-2, этилацетат, хлороформ. Скрининг наиболее подходящих растворителей производили по высокому выходу экстрактивных веществ и способности извлекать гиперцины.

Количественные характеристики экстракции различными растворителями методом мацерации представлены в табл. 1.

Таблица 1

Влияние растворителя на выход экстракта зверобоя

Растворитель	Выход экстракта по отношению к траве зверобоя, мас. %
1. Этанол	12,53
2. Ацетон	3,90
3. Бутанон-2	9,66
4. Циклогексанон-2	10,00
5. Этилацетат	2,23
6. Хлороформ	3,56

Качественное определение гиперцинов в полученных экстрактах осуществляли с помощью метода ТСХ по ярко-красной флуоресценции и соответствующему показателю R_f [2, 5]. В экстрактах, полученных с использованием в качестве экстрагентов бутанона-2, циклогексанона-2, этилацетата, хлороформа, отсутствовали гиперцины, в то время как в ацетоновом и этанольном экстракте наблюдалось наличие как гиперцина, так и его структурного аналога псевдогиперцина. Таким образом, проведение экстракции методом мацерации дало возможность определить, что наиболее подходящими растворителями для экстракции гиперцинов являются этанол и ацетон.

В связи с тем что метод мацерации является статическим способом проведения экстракции и не всегда обеспечивает максимальный выход экстрактивных веществ, нами было апробировано проведение экстракции способом перколяции с использованием этанола и ацетона в аппарате Сокслета. При этом скрининг наиболее эффективного способа проведения экстракции осуществлялся не только по выходам экстрактов, но и по количественному содержанию гиперцинов в них.

Количественное содержание гиперцинов определялось методом ВЭЖХ при помощи хроматомасс-спектрометра «Waters Micromass ZQ 2000» с использованием колонки BDS HYPERSIL C18 250×4,6 мм, детектирование осуществляли диодно-матричным детектором

при длине волны 590 нм и масс-детектором с электроспрей-ионизацией. Элюирование проводили в линейном градиенте при использовании системы, состоящей из ацетонитрила и 0,01 М водного раствора ацетата аммония со скоростью потока 1 мл/мин [6].

Результаты проведения сравнительной экстракции гиперцинов этанолом из зверобоя сорта «К-8» с помощью аппарата Сокслета и методом мацерации представлены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние условий проведения экстракции на эффективность извлечения гиперцинов из зверобоя

Способ экстракции	Выход экстракта, мас. %	Содержание гиперцина в экстракте, мас. %
В аппарате Сокслета	32,4	0,129
Метод мацерации	12,5	0,070

Как видно из табл. 2, проведение экстракции в аппарате Сокслета более эффективно по сравнению с экстракцией, проведенной методом мацерации.

С целью выявления наиболее эффективного растворителя для получения гиперцинсодержащего экстракта в аппарате Сокслета была произведена экстракция из травы зверобоя сорта «Янтарь» этанолом и ацетоном. Количественные характеристики процессов экстракционного выделения представлены в табл. 3.

Таблица 3

Влияние растворителя на эффективность экстракции гиперцинов из зверобоя в аппарате Сокслета

Экстрагент	Выход экстракта, мас. %	Содержание гиперцина в экстракте, мас. %
Этанол	22,0	0,23
Ацетон	7,2	0,23

Как видно из табл. 3, содержание гиперцина в обоих экстрактах одинаковое, однако использование этанола в качестве экстрагента обеспечивает более высокий выход экстрактивных веществ по сравнению с использованием ацетона в качестве растворителя, следовательно, для экстракции гиперцина наиболее приемлемым растворителем является этанол.

Таким образом, использование этанола и проведение экстракции в аппарате Сокслета наиболее эффективно для выделения гиперцинов из растительного материала по сравнению с проведением экстракции методом мацерации и использованием в качестве экстрагентов других растворителей. Разработанный

эффективный способ экстракции гиперцинов использовался в дальнейшем для их выделения с целью их идентификации и количественного анализа в 4 сортах зверобоя, произрастающих в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси. Количественное содержание гиперцинов в различных образцах зверобоя также определяли методом ВЭЖХ. Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

**Определение содержания гиперцинов
в различных сортах зверобоя**

Сорт	Содержание гиперцинов в экстракте, мас. %	Содержание гиперцинов в зверобое, мас. %
1. Янтарь	0,230	0,051
2. Дикая форма из Венгрии	0,081	0,02
3. К-8	0,129	0,042
4. Дикая форма из Полесья	0,084	0,016

Из табл. 4 видно, что наибольшее количество гиперцинов содержится в образцах 1 и 3, поэтому данные сорта можно использовать в качестве исходного сырья для выделения гиперцинов и создания на их основе лекарств для фотодинамической терапии.

Заключение. Таким образом, разработан эффективный способ выделения гиперцинов из травы зверобоя, включающий в себя экстракцию этанолом с помощью аппарата Сокслета и обеспечивающий высокий выход экстрактивных веществ с высоким содержанием в нем гиперцинов.

Выявлено, что сорта зверобоя «Янтарь» и «К-8», произрастающие в Центральном бота-

ническом саду НАН Беларуси, содержат в себе наибольшее количество гиперцинов (0,051 и 0,042% соответственно) и являются наиболее выгодным материалом, который может быть использован в создании лекарственных средств для фотодинамической терапии.

Литература

1. Karioti, A. Hypericins as potential leads for new therapeutics / A. Karioti, A. R. Bilia // *Int. J. Mol. Sci.* – 2010. – Vol. 11. – P. 562–594.
2. Китанов, Г. М. Фитохимическое изучение и анализ видов *Hypericum L.*, произрастающих в Болгарии / Г. М. Китанов // *Растительные ресурсы.* – 1988. – Т. 241. – С. 114–121.
3. Ширшова, Т. И. Экстракция как метод выделения биологически активных соединений: краткий обзор // *Вестник института биологии Коми НЦ УрО РАН.* – 2002. – № 57. – С. 41–42.
4. Semelcerovic, A. Comparison of methods for the exhaustive extraction of hypericins, flavonoids, and hyperforin from *Hypericum perforatum L.* / A. Semelcerovic, M. Spitteller, S. Zuehlke // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – Vol. 54. – P. 2750–2753.
5. Файзуллина, Р. Р. Фитохимическое изучение зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum L.*) флоры Башкортостана и перспективы создания на его основе новых лекарственных средств: дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Р. Р. Файзуллина. – Пермь, 2005. – 163 л.
6. Определение гиперцинов в зверобое методом ВЭЖХ-анализа / О. В. Стасевич [и др.] // *Химия и технология растительных веществ: тезисы докладов VII Всероссийской науч. конф., Сыктывкар, 3–5 окт. 2011 г.* / Институт химии Коми НЦ УрО РАН. – Сыктывкар, 2011. – С. 133.

Поступила 19.03.2012