Значение K_b имеет порядок 10^4 M^{-1} и свидетельствует об относительно невысокой прочности образующегося комплекса [5], а значение $n \sim 1$ указывает на наличие в молекуле белка только одного центра связывания для абиратерона ацетата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Determining the binding affinity and binding site of bensulfuron-methyl to human serum albumin by quenching of the intrinsic tryptophan fluorescence / F. Ding [et al.] // J. Lumin. – 2010. – Vol. 130, № 11. – P. 2013–2021.

2. Biophysical study on the interaction between eperisone hydrochloride and human serum albumin using spectroscopic, calorimetric, and molecular docking analyses / G. Rabbani [et al.] // Mol. Pharm. – 2017. – Vol. 14, № 5. – P. 1656–1665.

3. Binding interactions of pefloxacin mesylate with bovine lactoferrin and human serum albumin / J. C. Fan [et al.] // J. Zhejiang Univ. Sci. B. – 2006. – Vol. 7, № 6. – P. 452–458.

4. Tayyab, S. Binding of bilirubin to goat serum albumin: determination of binding constant / S. Tayyab, V. D. Trivedi // Biochem. Educ. – 1995. – Vol. 23, № 2. – P. 98–100.

5. Fluorescence and docking studies of the interaction between human serum albumin and pheophytin / O. A. Chaves [et al.] // Molecules. – 2015. – V. 20, № 10. – P. 19526–19539.

УДК 615.322

магистрант Д.А. Косяк

Науч. рук. зав. кафедрой В.Н. Леонтьев (кафедра биотехнологии, БГТУ);
доц. Н.А. Коваленко (кафедра физической, коллоидной и аналитической химии, БГТУ)

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИПЕРИЦИНА В ЭКСТРАКТАХ ТРАВЫ ЗВЕРОБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО *HYPERICUM PERFORATUM*

Трава зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* обладает фармакологической активностью и применяется для лечения и профилактики депрессий. Анксиолитическое действие *Hypericum perforatum* обусловлено наличием гиперицина [1].

Цель работы – количественное определение гиперицина в экстрактах травы зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum*.

Количественное определение суммы гиперицинов в пересчете на гиперицин проводили согласно ГФ РБ [2]. В круглодонную колбу

на 100 мл поместили 0,8 г измельченной травы зверобоя и 60 мл смеси из воды дистиллированной и тетрагидрофурана (20:80, об/об). Смесь кипятили с обратным холодильником в водяной бане при температуре 70 °С в течение 30 мин, затем центрифугировали при 700 g в течение 2 мин. Надосадочную жидкость поместили в колбу на 250 мл. Остаток поместили в ту же колбу объемом 100 мл, прибавили 60 мл смеси из воды дистиллированной и тетрагидрофурана (20:80, об/об), нагревали с обратным холодильником в течение 30 мин и центрифугировали при 700 g в течение 2 мин. Надосадочную жидкость помещали в колбу с первым извлечением и упаривали досуха. Остаток растворяли в 15 мл метанола, перенесли в мерную колбу на 25 мл и доводили до объема 25 мл этим же растворителем. Центрифугировали и фильтровали 10 мл надосадочной жидкости через мембранный фильтр (0,2 мкм), отбрасывая первые 2 мл фильтрата. 5 мл фильтрата довели метанолом до объема 25 мл. Компенсационный раствор – метанол. Измеряли оптическую плотность раствора при 590 нм на спектрофотометре Specord 200 Plus. Концентрацию гиперицина (с) вычисляли по формуле $c = A / \varepsilon \cdot l$, где А – оптическая плотность раствора при 590 нм, ε – молярный коэффициент экстинции гиперицина (для метанола равен 43882,8 л/(моль·см)), l – толщина слоя раствора, см. Концентрация гиперицина в экстракте составила 67,7 мкмоль/л. Так как экстракт не был очищен данный метод предполагает поглощение как гиперицина, так и сопутствующих веществ при 590 нм.

В связи с этим предложили определять концентрацию гиперицина в экстрактах травы зверобоя *Hypericum perforatum* с помощью флуориметрического метода, который является более избирательным и чувствительным.

Для построения калибровочного графика выделили гиперицин из настойки «Диагиперон» ТСХ методом. Для этого нанесли на ТСХ пластинку (TLC Silica gel 60) 280 мкл настойки «Диагиперон». Элюент – этилацетат:уксусная кислота (50:5, об/об). Детектирование осуществляли в УФ-свете при 254 нм. Гиперициновую фракцию вместе с силикагелем соскребли шпателем в пробирку. Экстрагировали гиперицин этилацетатом (9 мл). Упаривали раствор на роторном испарителе. Растворили сухой остаток в небольшом количестве метанола, перенесли в мерную колбу на 5 мл и довели до объема 5 мл метанолом. Измеряли оптическую плотность раствора при 590 нм. Концентрация гиперицина в растворе составила 3,11 мкмоль/л. Для построения калибровочного графика развели раствор в 2, 4, 8, 10 раз. Измерили интенсивность флуоресценции соответствующих растворов при $\lambda_{возб}$ = 540 нм и $\lambda_{исп}$ = 598 нм. По полученным данным построили

калибровочный график и определили концентрацию разведенного в 100 и 125 раз экстракта из травы зверобоя (рисунок). Концентрация гиперицина в экстракте составила 6,58 мкмоль/л.

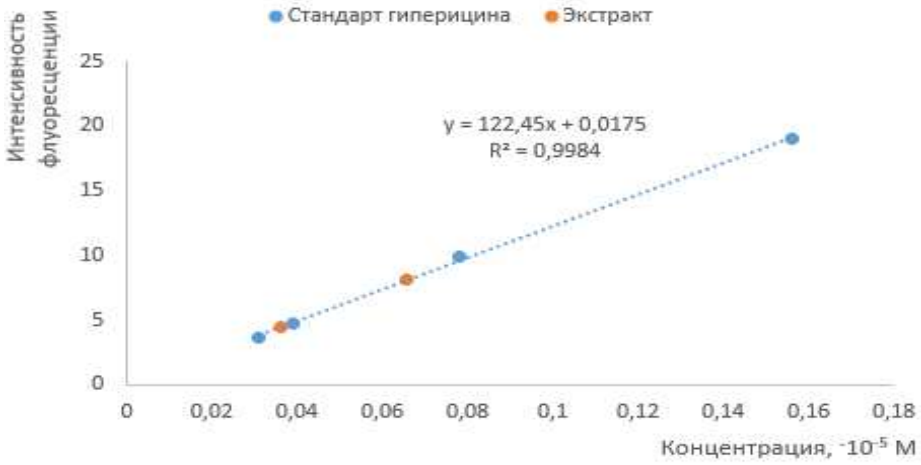

Рисунок 1 – Калибровочный график для определения концентрации гиперицина

Таким образом, использование флуоресцентной спектроскопии показало, что истинное содержание гиперицина в экстракте травы зверобоя составляет не 67,7 мкмоль/л, а на порядок меньше. Фармакопейный метод дает завышенные результаты за счет поглощения других компонентов в экстракте травы зверобоя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Role of hyperforin in the antidepressant-like activity of *Hypericum perforatum* extracts / L. Cervo [et al.] // Psychopharmacology. – 2002. – Vol. 164, № 4. – P. 423–428.

2. Государственная фармакопея РБ / МЗ РБ, УП «ЦЭИЗ» // под общ. ред. А.А. Шерякова. – Молодечно: тип. «Победа», 2012. – 1220 с.