

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 20733

(13) С1

(46) 2017.02.28

(51) МПК

*B 01D 11/02* (2006.01)

*A 61K 36/38* (2006.01)

(54)

## СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСТРАКТА ЗВЕРБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО

(21) Номер заявки: а 20131393

(22) 2013.11.26

(43) 2015.06.30

(71) Заявитель: Учреждение образования "Белорусский государственный технологический университет" (ВУ)

(72) Авторы: Коваленко Наталья Александровна; Супиченко Галина Николаевна; Янцевич Алексей Викторович; Леонтьев Виктор Николаевич (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение образования "Белорусский государственный технологический университет" (ВУ)

(56) CN 1392129 A, 2003.

CN 101224225 A, 2008.

DE 3935772 A1, 1991.

КОЛЬЦОВА Е.Г. и др. Вопросы химии и химической технологии. - 2012. - № 4. - С. 31-34.

СТАСЕВИЧ О.В. и др. Труды БГТУ: Серия 4. Химия, технология органических веществ и биотехнология, 2012. - С. 180-182.

СЫЧЕВ Р.Л. и др. Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы III Всероссийской конференции. Кн. 2. - Барнаул: Издательство Алтайского государственного университета, 2007. - С. 92-96.

RU 2000131213 A, 2002.

RU 2067452 C1, 1996.

(57)

Способ получения экстракта зверобоя продырявленного, при котором растительное сырье обрабатывают смесью, содержащей хлороформ, этанол и воду в соотношении 8:10:10, отделяют и концентрируют нижний слой с последующим растворением полученного продукта в этаноле, этанольный раствор обрабатывают 1 %-ным водным раствором желатины, отделяют образовавшийся осадок центрифугированием, фильтрат концентрируют при пониженном давлении и температуре ниже 45 °С, сухой остаток растворяют в 0,2 %-ном водном растворе аммиака и после центрифугирования аммиачный раствор обрабатывают муравьиной кислотой до рН 2-3 с последующим отделением осадка центрифугированием.

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно к способам получения препаратов из растительного сырья, обладающих фотодинамической активностью.

Известно, что звербой продырявленный (*Hypericum perforatum* L., сем. Звербойные-Нурегисассеае) является фармакопейным растением. На его основе получают препараты, обладающие фотодинамической активностью, обусловленной наличием соединений диантронового ряда (антраценпроизводных) гиперидина, псевдогиперидина, протогиперидина, протопсевдогиперидина, гиперфорина [1]. Необходимо отметить, что соединения диан-

тронового ряда малорастворимы в воде, поэтому для их экстракции используют органические растворители.

Известен способ получения экстракта зверобоя продырявленного [2], при котором траву зверобоя предварительно подвергают экстрагированию ацетоном с последующей обработкой оставшегося после экстракции высушенного растительного сырья 70 %-ным этанолом при соотношении 1:10 методом перколяции. Растительное сырье, оставшееся после экстракции 70 %-ным этанолом, высушивают и затем экстрагируют 30 %-ным этанолом при соотношении 1:10. Полученные от извлечения экстракты объединяют и высушивают.

Недостатком способа является использование больших объемов взрывоопасных и легколетучих растворителей.

Известен способ получения экстракта *Hypericum perforatum* L. [3], включающий экстракцию надземной массы цветущего *Hypericum perforatum* L. спиртом (в частности, этанолом или метанолом) или ацетоном, фильтрацию экстрактов и их концентрирование, разбавление полученного концентрата водой или водно-спиртовыми смесями, содержащими, в частности, этанол или метанол, экстракцию полученной водной смеси алифатическими сложными эфирами (в частности, этилацетатом, метилацетатом или бутилацетатом), фильтрацию и выпаривание досуха полученных эфирных экстрактов, при необходимости солюбилизацию в растворе органической кислоты (в частности, лимонной, яблочной, ацетиласпаргиновой или фосфорной кислоты) в водном этаноле и выпаривание растворителя при температуре ниже 40 °С. Суммарное содержание гиперидинов в полученных экстрактах превышает 0,5 мас. %.

Недостатком способа являются использование больших объемов взрывоопасных и легколетучих растворителей, а также недостаточно высокое содержание гиперидинов.

Известен способ получения экстракта *Hypericum perforatum* L., обогащенного гиперидином [4], заключающийся в том, что сухое растительное сырье травы зверобоя, содержащее не менее 50 % цветков (предпочтительно более 75 % цветков), подвергают долговременной экстракции (более 20 ч) водно-спиртовыми смесями, при которой соотношение спирта и воды, в частности, находится в интервале от 20:80 до 80:20 об. %, предпочтительно 50:50 об. %, при 60 °С и давлении выше 1,5 бар с последующим концентрированием продукта на роторном испарителе. По данным УФ-спектроскопии суммарное содержание гиперидинов в экстракте составляет 0,5 мас. %.

Недостатками способа являются длительность способа получения экстракта (более 5 ч), использование повышенных температур и давления, а также невысокое содержание гиперидинов за счет их частичного разложения в процессе экстракции.

Наиболее близким техническим решением является способ получения экстракта *Hypericum perforatum* L. [5], при котором измельченное растительное сырье *Hypericum perforatum* L. с цветами и листьями неоднократно (1-3 раза) обрабатывают полярным экстрагентом, содержащим 1-5 мас. % стабилизатора при соотношении растворитель : растительное сырье = 10:2 при температуре ниже 45 °С. В качестве полярного экстрагента используют спирты (в частности, метанол, этанол, пропанол или изопропанол), кетоны (в частности, ацетон), водно-спиртовые и водно-ацетоновые смеси. В качестве стабилизаторов используют органические кислоты (в частности, лимонную, винную, бензойную) и их смеси. Экстракты фильтруют, смешивают и концентрируют при пониженном давлении. К полученному продукту добавляют воду до содержания 20-60 % и неоднократно (1-3 раза) обрабатывают неполярным экстрагентом в соотношении экстракт : экстрагент = 1:6. В качестве неполярного экстрагента используют диэтиловый эфир, алканы (в частности, петролейный эфир, н-пентап, н-гексан или н-гептан), циклоалканы (в частности, циклопентан или циклогексан) или их смеси. Полученный продукт подвергают концентрированию при пониженном давлении и температуре ниже 45 °С и обрабатывают при 25 °С летучей кислотой (в частности, соляной, уксусной или их смесью) для создания сре-

ды с pH 0-4,4 с последующим выдерживанием продукта в течение 24-72 ч и фильтрованием. Полученный осадок промывают водой или промывной жидкостью со щелочной реакцией среды ( $\text{pH} \geq 8,5$ ). В качестве промывной жидкости используют 10-80 %-ный спиртовой раствор щелочи (в частности, KOH, NaOH,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{KHCO}_3$  или  $\text{NaHCO}_3$ ). Содержание гиперацинов в конечном продукте составляет 1-3 мас. %.

Недостатками способа являются длительность и многостадийность способа получения экстракта, использование больших объемов взрывоопасных и легколетучих растворителей, а также недостаточно высокое содержание гиперацинов за счет их частичного разложения в процессе экстракции и концентрирования.

Данный способ является по отношению к заявляемому прототипом.

Задачей настоящего изобретения является разработка способа получения экстракта зверобоя продырявленного с повышенным содержанием диантроновых соединений.

Задача решается путем получения экстракта зверобоя продырявленного с повышенным содержанием гиперацинов, заключающегося в том, что измельченное растительное сырье травы зверобоя продырявленного обрабатывают в течение 90 мин при комнатной температуре смесью, содержащей хлороформ, этанол и воду в соотношении 8:10:10, при перемешивании на магнитной мешалке. После разделения слоев нижний слой подвергают концентрированию при пониженном давлении и температуре ниже  $45^\circ\text{C}$ . Неочищенный экстракт растворяют в этаноле, фильтруют и удаляют из фильтрата дубильные вещества добавлением 1 %-ного водного раствора желатины с последующим центрифугированием для удаления нерастворимого осадка комплекса дубильных веществ с желатиной. Полупродукт подвергают концентрированию при пониженном давлении и температуре ниже  $45^\circ\text{C}$ . Сухой остаток растворяют в 0,2 %-ном водном растворе аммиака с последующим удалением нерастворимой части центрифугированием. Аммиачный раствор обрабатывают муравьиной кислотой до  $\text{pH} = 2-3$  для осаждения гиперацинов и отделяют осадок центрифугированием. Полученный осадок промывают дистиллированной водой. По данным спектрофотометрического анализа суммарное содержание гиперацинов в пересчете на гиперацин в полученном продукте составляет не менее 5,9 мас. %.

Сравнительный анализ существенных признаков заявляемого способа и прототипа показывает, что общими признаками у них являются экстрагирование растительного сырья органическими растворителями, обработка неочищенного экстракта органическими кислотами с последующей сушкой целевого продукта. Отличие заявляемого способа получения от известного заключается в том, что неочищенный экстракт обрабатывают 1 %-ным водным раствором желатины для удаления дубильных веществ, концентрируют при пониженном давлении и температуре ниже  $45^\circ\text{C}$ , продукт растворяют в 0,2 %-ном водном растворе аммиака и проводят осаждение гиперацинов обработкой муравьиной кислотой до  $\text{pH} 2-3$  с последующим центрифугированием. Предлагаемый способ позволяет повысить содержание гиперацинов в экстракте травы зверобоя продырявленного до 5,9 мас. %.

Анализ гиперацинов в целевом продукте проводят спектрофотометрическим методом. Протогиперацип и протопсевдогиперацин являются нестабильными соединениями и под действием света легко превращаются в гиперацин и псевдогиперацин. Гиперацин и псевдогиперацин проявляются в видимой области спектра в виде полос поглощения с максимумами  $\lambda \approx 550$  и  $\lambda \approx 590$  нм [6]. В УФ-области поглощение представляет собой наложение полос поглощения как самого гиперацина, так и сопутствующих примесных соединений. Поэтому для оценки суммарного содержания гиперацинов в расчете на гиперацин используют коэффициент молярной экстинкции  $40000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  при длине волны 590 нм.

### **Пример.**

В колбу с притертой пробкой вносят 0,3000 г измельченной травы зверобоя продырявленного, добавляют 20,0 мл смеси, содержащей хлороформ, этанол и воду в соотношении 8:10:10, и содержимое колбы перемешивают в течение 90 мин при комнатной температуре на магнитной мешалке. После отделения на делительной воронке нижний слой подвергают

# BY 20733 C1 2017.02.28

ют концентрированию на роторном испарителе при пониженном давлении и температуре ниже 45 °С. Сухой остаток растворяют в 25,0 мл этанола. К 4,0 мл полученного раствора добавляют 400 мкл 1 %-ного водного раствора желатины. После перемешивания и выдерживания суспензии в течение 10 мин осадок отделяют центрифугированием (10 мин при 1800 g). Фильтрат подвергают концентрированию на роторном испарителе при пониженном давлении и температуре ниже 45 °С. Сухой остаток растворяют в 3 мл 0,2 %-ного водного раствора аммиака с последующим отделением нерастворившейся части центрифугированием (10 мин при 1800 g). К фильтрату добавляют 40 мкл муравьиной кислоты, рН при этом уменьшается до 2-3. Образовавшийся хлопьевидный осадок черного цвета отделяют центрифугированием (10 мин при 1800 g), промывают водой и растворяют в этаноле. Для определения массы сухого остатка этанольный раствор количественно переносят в предварительно высушенный флакон, выпаривают и определяют массу сухого остатка. Содержание гиперина в пересчете на сухое вещество по данным электронной спектроскопии составляет 5,91 мас. %.

Полученные данные представлены в таблице. Из таблицы следует, что в результате обработки неочищенного экстракта 1 %-ным водным раствором желатины для удаления дубильных веществ, растворения полученного продукта в 0,2 %-ном водном растворе аммиака с последующим осаждением муравьиной кислотой до рН 2-3 содержание гиперцинов в экстракте увеличивается более, чем в 5 раз.

## Влияние вида обработки на содержание гиперцинов в экстракте

| Вид обработки                                | Содержание гиперина, мас. % |
|--|-----------------------------|
| Неочищенный экстракт                         | 0,84                        |
| После обработки раствором желатины           | 1,07                        |
| После обработки раствором аммиака            | 2,98                        |
| После обработки раствором муравьиной кислоты | 5,91                        |

Таким образом, предлагаемый способ позволяет получать экстракт зверобоя продырявленного с повышенным содержанием (не менее 5,9 мас. %) гиперцинов с использованием простых операций и недорогих и доступных реактивов.

Изобретение может быть использовано на предприятиях химико-фармацевтической промышленности, в частности на ОАО "Белмедпрепараты".

### Источники информации:

1. Karioti A., Bilia A.R. Hypericins as potential leads for new therapeutics // Int. J. Mol. Sci. - 2010. - Vol. 11. - P. 562-594.
2. Патент RU 2067452 C1, МПК А 61К 35/78, 1996.
3. Заявка RU 2000131213 А, МПК А 61К 35/78, 2002.
4. Патент DE 3935772 А1, МПК С 07С 49/747, С 07С 45/90, 1991.
5. Патент CN 1392129 А, МПК С 07С 50/36, С 07С 46/10, А 61К 35/78, 2003.
6. Узденский А.Б. 3 Модуль. Люминесценция: учебное пособие. [Электронный ресурс] / Ростов-на-Дону: Южный Федеральный университет. - С. 14-19. - Режим доступа: <http://dbs.sfedu.ru/www/umr.umr-download>. Дата доступа: 01.10.2013.