

УДК 615.32:547.9+543.544

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ОБОСНОВАНИЮ НОВЫХ ПОДХОДОВ К СТАНДАРТИЗАЦИИ СЫРЬЯ И ПРЕПАРАТОВ ЗВЕРОБОЯ ПРОДЫРЯВЛЕННОГО

© *О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин**

*Самарский государственный медицинский университет Росздрава,
ул. Чапаевская, 89, Самара, 443099 (Россия) E-mail: vakur@samaramail.ru*

Актуальность изучения химического состава травы зверобоя продырявленного заключается в необходимости разработки современных методик стандартизации сырья и препаратов. Методом колоночной хроматографии выделен ряд биологически активных соединений, среди которых флавоноиды рутин, гиперозид, кверцетин, 6,8¹¹-дикроцетин, 3,8¹¹-бисапигенин, фенилпропанойд хлорогеновая кислота и флороглюцин гиперфорин. Химическое строение выделенных соединений изучено с использованием УФ-, ЯМР- и масс-спектров и результатов различных химических превращений. 3,8¹¹-Бисапигенин и 6,8¹¹-дикроцетин впервые выделены из травы зверобоя продырявленного, произрастающего в РФ. Обоснована целесообразность использования ТСХ для определения подлинности травы зверобоя продырявленного путем обнаружения доминирующих компонентов – гиперозида, рутина и гиперидина в присутствии Государственных стандартных образцов гиперозида и рутина. Показана целесообразность количественного определения в сырье и препаратах зверобоя не только суммы флавоноидов, но и антраценпроизводных. Разработаны новые методики анализа суммы флавоноидов и антраценпроизводных для сырья и препарата «Зверобоя настойка».

Введение

Лекарственные препараты на основе травы зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L., сем. Зверобойные – *Hypericaceae*) широко применяются в медицинской практике в качестве противовоспалительных, ранозаживляющих, вяжущих, реже фотосенсибилизирующих средств [1, 2]. В то же время за рубежом на основе зверобоя получают антидепрессантные средства, такие как «Деприм», «Негрустин» и «Гелариум Гиперикум», разрешенные для применения в РФ. Следует также отметить, что в настоящее время в нашей стране не производятся антидепрессантные препараты на основе лекарственного растительного сырья. При этом в литературных источниках неоднозначно трактуется нейротропный эффект травы зверобоя: сообщается о седативных, антидепрессивных, а в некоторых случаях даже о стимулирующих ЦНС свойствах [3, 4]. Это является следствием того, что химический состав травы зверобоя до сих пор остается недостаточно изученным. Как известно, трава зверобоя содержит флавоноиды (рутин, гиперозид), антраценпроизводные (гиперидин, псевдогиперидин), флороглюцины (гиперфорин), дубильные вещества, эфирное масло и др. [4, 5]. Причем остается открытым вопрос о том, какая же именно группа действующих веществ оказывает нейротропное действие. Ряд зарубежных авторов склоняются к мысли, что этим эффектом обладает гиперфорин, часть приписывают это действие флавоноидам, другие – антраценпроизводным. Именно поэтому до сих пор остается нерешенным в полной мере вопрос стандартизации как для сырья, так и препаратов зверобоя. Кроме того, в настоящее время существует множество подходов к химическому анализу этого растения, в то время как современные условия требуют унификации методик [6].

Цель работы – исследование химического состава травы зверобоя продырявленного и разработка на этой основе новых подходов к стандартизации сырья и препаратов данного растения.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Экспериментальная часть

Для исследования нами был получено с помощью 90% этилового спирта извлечение из травы зверобоя продырявленного, заготовленной в Самарской области в 2006 г. Полученное извлечение упаривали под вакуумом и наносили на силикагель L 100/160. Разделение веществ осуществляли методом колоночной хроматографии на силикагеле, где в качестве элюентов использовали хлороформ, спирто-хлороформные смеси в различных сочетаниях и спирт этиловый. Элюаты делили на фракции примерно одинакового объема (по 200 мл), затем упаривали под вакуумом. Таким образом, нами был получен ряд фракций (более 50), которые в дальнейшем использовали для выделения индивидуальных веществ. Индивидуальные вещества получали методом рехроматографии на колонках, где в качестве сорбента использовали полиамид и сефадекс LH-20. Контроль за разделением веществ осуществлялся с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках «Silufol UV 254» и «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» в системах хлороформ–спирт (2 : 1), а также специально разработанной нами системе хлороформ–этанол–вода (26 : 16 : 3). Выделенные вещества были исследованы с помощью УФ-, ¹H-ЯМР-спектроскопии, масс-спектрометрии, различных химических превращений, ТСХ. Таким образом, нами были выделены следующие компоненты: 3,8¹¹-бисапигенин, кверцетин, 6,8¹¹-дикверцетин, гиперозид, рутин (флавоноиды), хлорогеновая кислота (фенилпропанойд) и гиперфорин (флороглюцин).

1. **3,8¹¹-Бисапигенин.** Светло-желтое аморфное вещество состава C₃₀H₁₈O₁₀ с т.пл. 233–235 °С, M⁺ 302 (100 %), УФ-спектр: λ_{max} 270, 330 нм. ¹H-ЯМР-спектр в дейтероацетоне (δ, м.д.): 13,15 (с, 5-OH), 12,99 (с, 5¹¹-OH), 7,71 (д, 9 Гц, 2H, H-2¹, 6¹), 7,51 (д, 9 Гц, 2H, H-2¹¹, 6¹¹), 6,90 (д, 9 Гц, 2H, H-3¹, 5¹), 7,79 (д, 9 Гц, 2H, H-3¹¹, 5¹¹), 6,61 (с, H-3¹¹), 6,60 (д, 2,5 Гц, H-8), 6,35 (д, 2,5 Гц, H-6), 6,34 (с, H-6¹¹).

2. **Кверцетин.** Светло-желтое аморфное вещество состава C₁₅H₁₀O₇ с т.пл. 312–314 °С, M⁺ 302 (100%), УФ-спектр в этаноле: λ_{max} 257, 268 пм, 372 нм. ¹H-ЯМР-спектр в дейтероацетоне (δ, м.д.): 12,20 (с, 5-OH), 7,83 (д, 9 Гц, H-2¹), 7,70 (дд, 2 и 9 Гц, H-6¹), 6,99 (д, 9 Гц, H-5¹), 6,53 (д, 2,5 Гц, H-8), 6,26 (д, 2,5 Гц, H-6).

3. **6,8¹¹-Дикверцетин.** Желтое аморфное вещество состава C₃₀H₁₈O₁₄, УФ-спектр в этаноле: λ_{max} 257, 268 пм, 374 нм. ¹H-ЯМР-спектр в дейтероацетоне (δ, м.д.): 7,83 (д, 9 Гц, H-2¹), 7,70 (дд, 2 и 9 Гц, H-6¹), 7,53 (д, 9 Гц, H-2¹¹), 7,48 (дд, 2 и 9 Гц, H-6¹¹), 6,98 (д, 9 Гц, H-5¹), 6,89 (д, 9 Гц, H-5¹¹), 6,53 (уш. с, H-8), 6,27 (уш. с, H-6).

4. **Гиперозид.** Светло-желтое кристаллическое вещество состава C₂₁H₂₀O₁₂ с т.пл. 233–235 °С (водный ацетон); УФ-спектр в этаноле: λ_{max} 258, 266 пм, 362 нм. ¹H-ЯМР-спектр в смеси дейтероацетона и дейтероводы (δ, м.д.): 12,30 (с, 5-OH), 7,92 (д, 2,5 Гц, H-2¹), 7,55 (дд, 2,5 и 9 Гц, H-6¹), 6,88 (д, 9 Гц, H-5¹), 6,45 (д, 2,5 Гц, H-8), 6,21 (д, 2,5 Гц, H-6), 5,20 (д, 7,5 Гц, H-1¹¹ галактозы), 3,5–4,0 (м, 6H галактозы).

5. **Рутин.** Зеленовато-желтое кристаллическое вещество состава C₂₇H₃₀O₁₆; т.пл. 192–194 °С (водный спирт) УФ-спектр: λ_{max} 258, 266 пм, 362 нм. ¹H-ЯМР-спектр в смеси дейтероацетона и дейтероводы, 2 : 1 (δ, м.д.): 7,74 (д 9 Гц, H-2¹), 7,68 (дд, 2,5 и 9 Гц, H-6¹), 6,94 (д, 9 Гц, H-5¹), 6,50 (д, 2,5 Гц, H-8), 6,27 (д, 2,5 Гц, H-6), 5,13 (д, 7 Гц, H-1¹¹ глюкозы), 4,55 (д, 2 Гц, H-1¹¹ рамнозы), 3,70–3,25 (м, 6H глюкозы + 4H рамнозы), 1,08 (д, 6 Гц, 3H, CH₃ рамнозы).

6. **Хлорогеновая кислота (3)** C₁₆H₁₈O₉. Т. пл. 203–205 °С (вода). УФ-спектр в спирте этиловом: 243, 300 пм, 330 нм. ¹H-ЯМР-спектр в ДМСО-d₆ (100 МГц, м.д.): 7,45 (д, 16 Гц, H-7), 7,06 (д, 2 Гц, H-2¹), 7,01 (дд, 2 и 8 Гц, H-6¹), 6,80 (д, 8 Гц, H-5¹), 6,18 (д, 16 Гц, H-8), 5,10 (дт, 5 и 9 Гц, H-5), 4,00 (кв, 3 Гц, H-3), 3,62 (дд, 3 и 9 Гц, H-4).

7. **Гиперфорин.** Светло-желтое сиропообразное вещество состава C₃₃H₅₄O₄; УФ-спектр в этаноле: λ_{max} 275 нм. ¹H-ЯМР-спектр в дейтерохлороформе (δ, м.д.): 4,8–5,3 (м, 4H, H-15, H-22, H-27, H-32), 4,2–4,3 (м, 2H, H-14), 3,20 (м, 1H, H-11), 1,8–2,5 (м, 10H, H-6, H-7, 2H-19, 2H-21, 2H-26, 2H-31), 1,5–1,8 (м, 28H, CH₃-17, 18, 24, 25, 29, 30, 34, 35), 1,20 (с, 6H, CH₃-12, CH₃-13), 1,00 (с, 3H, CH₃-20).

Далее нами решались вопросы стандартизации действующих веществ в сырье и препаратах зверобоя, заключающиеся в разработке методик качественного и количественного определения флавоноидов и антраценпроизводных.

1. Методика качественного анализа травы зверобоя. Извлечение травы зверобоя (см. раздел 2) имеет ярко-красный цвет и красную флуоресценцию в УФ-свете при длине волны 366 нм (антраценпроизводные). С полученным извлечением прореагируют дальнейшие реакции.

1. В пробирку помещают 1 мл полученного извлечения и прибавляют несколько капель раствора железосаммонийных квасцов или хлорида окисного железа. Появляется черно-зеленое окрашивание (дубильные вещества).

2. В пробирку помещают 1–2 мл извлечения и несколько капель раствора гидроксида натрия, при этом наблюдается зелено-желтое окрашивание. Затем прибавляют несколько капель раствора хлористоводородной кислоты, происходит восстановление первоначальной красной окраски раствора (антраценпроизводные).

3. На линию старта пластинки «Силуфол УФ-254», «Сорбфил-ПТСХ-П-А-УФ» или «Сорбфил-ПТСХ-А-УФ» микропипеткой наносят около 0,03 мл полученного извлечения, рядом наносят такие же объемы растворов Государственного стандартного образца (ГСО) гиперозида и ГСО рутина. Хроматографическую пластинку помещают в камеру, которую предварительно насыщают не менее 1 ч смесью растворителей: хлороформ – метиловый спирт – вода (26 : 14 : 3) либо хлороформ – этиловый спирт – вода (26 : 16 : 3), хроматографируют восходящим способом.

Когда фронт растворителей пройдет около 13 см (силуфол) или 8 см (сорбфил), пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 5 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм и 366 нм. Затем хроматограмму опрыскивают из пульверизатора раствором диазобензолсульфокислоты. На хроматограмме извлечения обнаруживаются пятна доминирующих веществ травы зверобоя, среди которых пятно, соответствующее хлорогеновой кислоте (R_f около 0,2), рутину (R_f около 0,4), гиперозиду (R_f около 0,5), гиперичину (R_f около 0,6). При этом пятно, соответствующее хлорогеновой кислоте, светится в УФ-свете при длине волны 366 нм голубым светом; пятна, соответствующие рутину и гиперозиду, флуоресцируют фиолетовым светом в УФ-свете при длине волны 254 нм на уровне соответствующих стандартов и проявляются раствором диазобензолсульфокислоты в желто-коричневый цвет; пятно, соответствующее гиперичину, проявляется в УФ-свете при длине волны 366 нм (розово-красная флуоресценция). Допускается наличие и других пятен.

Примечания: 1. *Подготовка пластинок.* Пластины «Силуфол УФ 254» 15×15 см или «Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ» (ТУ 26-11-17-89) перед использованием активируют в сушильном шкафу при 100–105 °С в течение 1 ч. Пятна исследуемых растворов наносят поперек линиям накатки.

2. *Приготовление раствора гиперозида.* 0,1 г гиперозида помещают в мерную колбу на 100 мл, добавляют 10 мл 95% спирта, растворяют на кипящей водяной бане, остужают до комнатной температуры и доводят 95% спиртом до метки.

3. *Приготовление раствора диазобензолсульфокислоты.* 0,01 г диазобензолсульфокислоты (ГФ Х, С. 876) растворяют в 10 мл 10% раствора натрия карбоната. Раствор используют свежеприготовленным.

2. Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве зверобоя продырявленного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера 1 мм. Около 1 г сырья (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарирных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через рыхлый комочек ваты и остужают в течение 30 мин (извлечение из травы).

Испытуемый раствор для анализа флавоноидов готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Раствор сравнения готовят следующим образом: 1 мл извлечения из травы помещают в мерную колбу на 50 мл, прибавляют 2–3 капли раствора уксусной кислоты и доводят объем раствора до метки 95% этиловым спиртом (раствор сравнения А).

Параллельно готовят раствор ГСО рутина. Около 0,025 г (точная навеска) рутина помещают в мерную колбу на 50 мл, растворяют в 30 мл 70% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры и доводят 70% этиловым спиртом до метки (раствор А рутина). 1 мл раствора А рутина помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят 95% спиртом до метки (испытуемый раствор Б рутина). В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А рутина и капли раствора уксусной кислоты, помещенных в мерную колбу на 25 мл, и доведенный 95% спиртом до метки (раствор сравнения Б рутина).

Измерение оптической плотности проводят при длине волны 412 нм через 40 мин после приготовления всех растворов. Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле

$$X = \frac{D \times m_0 \times 50 \times 50 \times 1 \times 100 \times 100}{D_0 \times m \times 1 \times 50 \times 25 \times (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора ГСО рутина; m_0 – масса ГСО рутина, в граммах; m – масса сырья, в граммах; W – потеря в массе при высушивании, в процентах.

3. Методика количественного определения суммы антраценпроизводных в траве зверобоя продырявленного. 5 мл полученного извлечения из травы (см. выше) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят этиловым спиртом до метки. Измерение оптической плотности проводят при длине волны 591 нм. Раствором сравнения при этом является этиловый спирт. Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на гиперин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле

$$X = \frac{D \times 50 \times 50 \times 100}{718 \times m \times 5 \times (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; 718 – удельный показатель поглощения 1% раствора гиперина; m – масса сырья, г; W – потеря в массе при высушивании, %.

Обсуждение результатов

С использованием метода колоночной хроматографии нами были выделены следующие компоненты: гиперин, 3,8¹¹-бисапинин, кверцетин, 6,8¹¹-дикверцетин, гиперозид, рутин, хлорогеновая кислота. При этом гиперин, 6,8¹¹-дикверцетин и хлорогеновая кислота представляют собой некристаллические соединения, а остальные четыре компонента – вещества кристаллической природы. 3,8¹¹-Бисапинин и 6,8¹¹-дикверцетин впервые выделены из травы зверобоя продырявленного, произрастающего в РФ, причем 6,8¹¹-дикверцетин впервые описан для рода *Hypericum*. Следует отметить, что 3,8¹¹-бисапинин имеет диагностическое значение, причем в условиях ТСХ данный компонент трактуется многими исследователями как кверцетин. Поэтому нами были специально подобраны условия для ТСХ, позволяющие разделить пятна, соответствующие кверцетину и бисапинину. Флавоноидный димер бисапинин, наряду с антраценпроизводными, является уникальным веществом для травы зверобоя.

Большое разнообразие БАС травы зверобоя создает сложности для химического анализа. Так, в траве зверобоя определяется содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин, аналогичный метод применяется для анализа настойки зверобоя [7, 8]. В обоих случаях методом количественного анализа служит дифференциальная спектрофотометрия с добавлением спиртового раствора хлорида алюминия при длине волны 415 нм. Следует отметить, что выбранный метод, на наш взгляд, является оптимальным для травы зверобоя, но в тексте обеих фармакопейных статей допущен ряд ошибок, существенно искажающих суть методик, над исправлением которых мы работали. Прежде всего нами были изучены подходы к оптимизации анализа суммы флавоноидов в траве зверобоя в пересчете на рутин [7], а также обоснована целесообразность анализа суммы антраценпроизводных травы зверобоя. Для этого мы получали ряд извлечений из травы, для которых использовался разный режим экстракции (время, соотношение «сырье : экстрагент», процент этилового спирта, количество экстракций). Как следует из данных, приведенных в таблицах 1–5, оптимальными условиями для извлечения флавоноидов и антраценпроизводных является экстракция при соотношении сырье-экстрагент 1 : 50 в режиме однократной экстракции. Методом анализа для суммы флавоноидов в траве зверобоя нами выбрана дифференциальная спектрофотометрия с использованием раствора ГСО рутина в качестве стандарта. Оптимальным экстрагентом при этом является 70% этиловый спирт. Следует отметить, что выбрав 70% этиловый спирт в качестве оптимального экстрагента (вместо 50% этилового спирта в соответствии с ГФ СССР XI изд.) для анализа сырья, мы рекомендуем его и для получения препарата «Зверобоя настойка». Как известно, в настоящее время этот препарат получают, используя 40% этиловый спирт.

В качестве аналитической длины волны для флавоноидов целесообразно использовать 412 нм, а не 455 нм, как описано в фармакопейной методике, поскольку именно это значение приходится на максимум для комплекса доминирующих флавоноидов (рутин, гиперозид) с раствором алюминия хлорида. Для анализа суммы антраценпроизводных в траве зверобоя нами выбран метод прямой спектрофотометрии при длине волны 591 нм. Аналогичные методы рекомендованы нами и для анализа препарата «Зверобоя настойка».

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве зверобоя, по нашим данным, лежит в пределах 4,0–7,5%. На наш взгляд, содержание флавоноидов в сырье должно быть не менее 2% (вместо числового показателя содержания флавоноидов не менее 1,5%). С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов травы зверобоя в 11 повторностях, и на этой основе приводятся метрологические ха-

рактеристики. Показано, что ошибка единичного определения составляет $\pm 1,49\%$. Результаты исследований зависимости выхода флавоноидов при изменении различных параметров приведены в таблицах 1–3.

Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на гиперин в траве зверобоя, по нашим данным, лежит в пределах 0,10–0,90%.

Подбирая оптимальные условия для извлечения антраценпроизводных из сырья, работу проводили аналогично анализу флавоноидов. Оптимальными условиями экстракции оказались те же параметры, что и для флавоноидов. Следовательно, возможно получение извлечения из сырья, часть которого используется для анализа флавоноидов, часть – для анализа антраценпроизводных. В своих исследованиях мы отталкивались от методики анализа, изложенной в [9] на препарат «Деприм», в которой определяется сумма антраценпроизводных в пересчете на гиперин с использованием прямой спектрофотометрии при длине волны 590 нм. Однако, как показали проведенные нами исследования, максимум для суммы антраценпроизводных находится при длине волны 591 нм.

В действующей методике анализа препарата «Деприм» применяется ряд агрессивных реактивов, таких как метиловый спирт, что нежелательно с точки зрения безопасности, а также некоторые дорогостоящие и редкие реактивы, оснащения и аппараты, широко не используемые в методиках фармацевтического анализа нашей страны.

Результаты исследований зависимости выхода антраценпроизводных из травы зверобоя при изменении различных параметров приведены в таблицах 4–5. С использованием разработанной методики нами проанализирован ряд образцов травы зверобоя в 11 повторностях, и на этой основе приводятся метрологические характеристики. Показано, что ошибка единичного определения составляет $\pm 4,11\%$

Предложенная нами методика анализа антраценпроизводных, где в качестве метода также используется прямая спектрофотометрия при длине волны 591 нм, выгодно отличается от существующей отсутствием токсичных реактивов, дорогостоящего оснащения, а также непродолжительным временем, затраченным на анализ. Такой же подход целесообразно применять и для анализа настойки зверобоя.

Таблица 1. Зависимость выхода флавоноидов от параметров экстракции

Экстрагент	Соотношение сырье (г) – «экстрагент» (мл)	Время экстракции, мин	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (%)
40% этиловый спирт	1 : 100	90	5,90 \pm 0,08
50% этиловый спирт	1 : 100	90	6,00 \pm 0,09
70% этиловый спирт	1 : 30	90	5,20 \pm 0,08
70% этиловый спирт	1 : 50	90	6,40 \pm 0,10
70% этиловый спирт	1 : 100	90	6,40 \pm 0,10
90% этиловый спирт	1 : 100	90	5,70 \pm 0,08

Таблица 2. Зависимость выхода флавоноидов из травы зверобоя от числа экстракций

№	Экстрагент	Количество экстракций	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (%)
1	70% этиловый спирт	Однократная экстракция	5,65 \pm 0,08
2	70% этиловый спирт	Двукратная экстракция	5,70 \pm 0,09
3	70% этиловый спирт	Трехкратная экстракция	5,75 \pm 0,09

Таблица 3. Зависимость выхода флавоноидов из травы зверобоя от времени экстракции

№	Время, мин	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин (%)
1	15	4,95 \pm 0,06
2	30	5,10 \pm 0,08
3	45	5,20 \pm 0,08
4	60	5,30 \pm 0,08
5	90	6,10 \pm 0,09
6	120	6,00 \pm 0,07

Таблица 4. Зависимость выхода антраценпроизводных от параметров экстракции

№	Экстрагент	Соотношение «сырье (г) – экстрагент» (мл)	Время экстракции, мин	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на гиперин (%)
1	40% этиловый спирт	1 : 50	90	0,59±0,024
2	70% этиловый спирт	1 : 30	90	0,64±0,026
3	70% этиловый спирт	1 : 50	90	0,72±0,029
4	90% этиловый спирт	1 : 50	90	0,46±0,018
5	95% этиловый спирт	1 : 50	90	0,33±0,013

Таблица 5. Зависимость выхода антраценпроизводных из травы зверобоя от времени экстракции

№	Время экстракции, мин	Содержание суммы антраценпроизводных в пересчете на гиперин (%)
1	30	0,47±0,019
2	45	0,48±0,019
3	60	0,53±0,021
4	90	0,54±0,022
5	120	0,48±0,019

Выводы

1. В результате проведенных исследований из травы зверобоя выделен ряд БАС, причем 3,8¹¹-бисапинин и 6,8¹¹-дикверцетин впервые обнаружены в траве зверобоя продырявленного, произрастающего в РФ, а 6,8¹¹-дикверцетин впервые описан для видов рода *Hypericum*.
2. Разработана методика качественного анализа для травы зверобоя продырявленного, основанная на методе ТСХ и использовании Государственных стандартных образцов рутина и гиперозида.
3. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на рутин в траве зверобоя с 70% этиловым спиртом в качестве экстрагента, в режиме однократной экстракции с использованием дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм.
4. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в пересчете на гиперин в траве зверобоя, где методом анализа является прямая спектрофотометрия при длине волны 591 нм.

Список литературы

1. Государственный реестр лекарственных средств. Официальное издание. М., 2004. Т. 1. 1404 с.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник. Самара, 2004. С. 758–763.
3. Butterweck V., Jurgenliemk G., Nahrstedt A., Winterhoff H. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test // *Planta Medica*. 2000. V. 66. P. 3–6.
4. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Paeoniaceae* – *Thymelaeaceae*. Л., 1985. С. 16–18.
5. Китанов Г.М., Блинова К.Ф. Современное состояние химического изучения видов рода *Hypericum* // *Химия природных соединений*. 1987. №2. С. 185–203.
6. Самылина И.А. Традиционная медицина и питание: теоретические и практические аспекты // *Материалы I международного научного конгресса*. М., 1994. С. 254.
7. Государственная Фармакопея СССР. Одиннадцатое издание. М., 1990. Вып. 2. С. 323–325.
8. ФС 42-1889-95 «Настойка зверобоя», 6 с.
9. НД 42-7136-97 «Деприм таблетки, покрытые оболочкой», 8 с.

Поступило в редакцию 15 июля 2007 г.