

OBȚINEREA SĂRII DIETILAMONIU DE HIPERFORINĂ DIN HERBA DE SUNĂTOARE (HYPERICUM PERFORATUM L.)



DR. CONF. CERC. IGOR CASIAN,
USMF „N. TESTEȘANU”,
CENTRUL ȘTIINȚIFIC ÎN
DOMENIUL MEDICAMENTULUI



DR. ANA CASIAN,
USMF „N. TESTEȘANU”,
CENTRUL ȘTIINȚIFIC ÎN
DOMENIUL MEDICAMENTULUI

HIPERFORINA ESTE CONSIDERATĂ ÎN PREZENT DREPT UNUL DINTRE PRINCIPALII COMPONENTI FARMACOLOGIC ACTIVI ÎN HERBA DE SUNĂTOARE (HYPERICUM PERFORATUM L.), CĂREIA I SE ATRIBUIE EFECT ANTIDEPRESANT, ANTIMICROBIAN, ANTITUMORAL Ș. A. [1, 2].

Însă, oxidarea destul de ușoară a hiperforinei în contact cu oxigenul din atmosferă o face să fie instabilă atât în procesul de prelucrare a plantei, cât și la păstrarea produsului vegetal, produselor extractive și formelor farmaceutice industriale [3, 4]. Una din soluțiile problemei date poate fi izolarea hiperforinei în formă de săruri, care sunt mult mai stabile decât forma acidă. Procedeele de obținere a acestora, descrise în literatură, rezultă din hiperforina preventiv izolată, fie din CO₂ extracte ale herbei de sunătoare, care conțin în jur de 30% hiperforină [5]. Aceste tehnici sunt destul de costisitoare, datorită volumului mare de lucru la izolarea hiperforinei în stare pură, precum și din cauza utilizării utilajului complicat și costisitor la extracția cu dioxid de carbon.

OBIECTIVELE LUCRĂRII

Scopul prezentei lucrări a constat în elaborarea unui procedeu relativ simplu de obținere a unei sări stabile de hiperforină din extractele hidroalcoolice de sunătoare, fără izolarea preventivă a hiperforinei.

MATERIALE ȘI METODE

În studiu au fost utilizate părți aeriene uscate de sunătoare (vârfurile plantei), recoltare din flora spontană în faza de înflorire și începutul fazei de fructificare.

Extracția s-a efectuat prin metoda descrisă mai jos, dar pot fi utilizate și metode tradiționale, dacă asigură protejarea hiperforinei de la oxidare.

Pentru analiza mostrelor de materie primă și produselor obținute din ea s-a utilizat cromatograful de lichide Jasco seria LC-2000, dotat cu detector UV cu șir de diode (DAD). Separarea cromatografică s-a efectuat pe coloane analitice cu fază inversă [6]. Reactivile și solvenții pentru HPLC au fost procurate de la “Sigma”.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Analiza preventivă a mostrelor herbei de sunătoare, recoltate din flora spontană în regiunea de centru a Republicii Moldova, a arătat că conținutul de hiperforină (recalculat la masă uscată) în părți aeriene înflorite constituie 3-5%, iar în fructe necoapte ajunge la 7-10%. Astfel, fructele de sunătoare prezintă o materie primă mai avantajoasă, deși nu se consideră produs vegetal farmaceutic pentru obținerea hiperforinei.

OBȚINEREA EXTRACTULUI DE SUNĂTOARE

Pentru reducerea pierderilor de hiperforină din cauza influenței oxigenului din atmosferă s-a aplicat extracția la temperatură înaltă într-o instalație de laborator, descrisă recent [7]. În extractor, se încarcă, puțin compactat, circa 0,5 kg de produs vegetal uscat, fragmentat până la dimensiunile particulelor 5-10 mm. Extracția optimă a hiperforinei se obține la utilizarea solventului hidroalcoolic cu concentrația de 80-90% și viteza de alimentare de 500-700 ml/oră.

Capacitatea încălzitorului se stabilește în asemenea mod, încât valorile de temperatură ale soluției extractive curgătoare să se situeze în intervalul de 70-75°C. Procesul se efectuează până se obține 1,8-2,0 l de extract, apoi alcoolul din șrot se recuperează cu vapori de apă. Randamentul hiperforinei la extracția prin metoda dată constituie 82-87%.

OBȚINEREA SĂRII DIETILAMONIU DE HIPERFORINĂ

La extractul obținut se adaugă, amestecând, soluție de hidroxid de sodiu cu concentrația de 60% până la pH-ul 11,0-11,5 (potențiomtric). La această etapă, o parte considerabilă din acizii organici și compușii fenolici se precipită sub formă de săruri de sodiu, formând o soluție concentrată rășinoasă de culoare aproape neagră. Ea se separă prin centrifugare timp de 3-5 min. la accelerarea a 500-1000 g și se aruncă. Din extractul alcalinizat se rectifică alcoolul etilic, până la volumul rezidului de 1/10-1/8 din volumul inițial. Rectificatul poate fi utilizat repetat pentru extracția materiei prime. La rezidul rămas, fiind cald încă, se adaugă 10 ml soluție de sulfat de sodiu 20% (în calitate de antioxidant) și dietilamină, în surplus de 1,3-1,5 ori în raport cu cantitatea stoichiometrică, calculată din conținutul su-

mei de hiperforină și adhiperforină în extract sau în materia primă. Apoi se adaugă, amestecând permanent, 700-800 ml de apă cu viteza volumetrică de 200-400 ml/oră. Sarea dietilamoniu de hiperforină se cristalizează în formă de plăci, care apoi se separă prin filtru de sticlă cu porozitatea mare, se spală cu apă până când lichidul ce se scurge devine incolor și se usucă la temperatura de 40-50°C. În dependență de calitatea materiei prime, se obține 15-40 g de produs finit cu randamentul de aproximativ 86% de la valoarea teoretică, iar randamentul rezultativ al hiperforinei este de 70-75% din conținutul acesteia în materia primă vegetală.

PROPRIETĂȚILE FIZICO-CHIMICE ALE SĂRII DIETILAMONIU DE HIPERFORINĂ

Produsul obținut prezintă o pulbere cristalină de culoare albă cu nuanță surie sau crem, fără miros și gust. Este ușor solubil în etanol 96% și cloroform, solubil în etanol 70%, puțin solubil în acetone, practic insolubil în apă și hexan. Conține nu mai puțin de 97% din suma sărurilor dietilamoniu de hiperforină și adhiperforină. Raportul hiperforină : adhiperforină constituie în jur de 10:1 – 13:1 și este egal cu raportul corespunzător în materia primă din care a fost obținut produsul.

Pierderea la uscare (105-110°C) constituie 0.4-0.6%, cenușa totală – 0.02-0.06%, intervalul de topire – 146-153°C.

Substanța este destul de stabilă în stare solidă, păstrată în locuri uscate, iar în soluții se oxidează ușor cu oxigenul atmosferic. Se preconizează că aceasta va fi utilizată la prepararea formelor farmaceutice solide.

PURIFICAREA SĂRII DIETILAMONIU DE HIPERFORINĂ

30 g de sare dietilamoniu de hiperforină se spală cu acetone pe filtru de sticlă cu porozitate mare până când lichidul ce se scurge devine incolor, apoi se recrystalizează din acetone fierbinte și se usucă la temperatura 40-50°C. Se obțin circa 27 g de produs purificat în formă de cristale rombice incolore. După determinarea conținutului sărurilor dietilamoniu de hiperforină și adhiperforină prin metoda normalizare internă, acest produs poate fi utilizat în calitate de substanță de referință pentru analiza materiei prime, produselor extractive și formelor farmaceutice.

CONCLUZII

A fost elaborat un procedeu relativ simplu și ieftin de obținere a sării dietilamoniu de hiperforină nemijlocit din extractele hidroalcoolice ale herbei de sunătoare, fără o izolare preliminară a hiperforinei în stare pură. S-au studiat proprietățile fizico-chimice ale substanței obținute.

Elaborarea procedurii de obținere a acestei substanțe va permite efectuarea studiului farmacologic și implementarea acesteia în industria chimico-farmaceutică la producerea formelor farmaceutice.

REFERINȚE

1. WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS). *Herba Hyperici*. 2010, p. 201-227
2. SCHEMPP, Christoph M., KIRKIN, Vladimir, SIMON-HAARHAUS, Birgit et al. *Inhibition of tumour cell growth by hyperforin, a novel anticancer drug from St. John's wort that acts by induction of apoptosis*. *Journal Oncogene*. February 2002, Volume 21, Number 8, Pages 1242-1250
3. ANG, Catharina Y., HU, Lihong, HEINZE, Tho-

mas M. et al. *Instability of St. John's Wort (Hypericum perforatum L.) and Degradation of Hyperforin in Aqueous Solutions and Functional Beverage*. *J. Agric. Food Chem.*, 52 (20), 6156-6164, 2004

4. ORTH, H. C., RENDEL, C., SCHMIDT, P. C. *Isolation, Purity Analysis and Stability of Hyperforin as a Standard Material from Hypericum perforatum L.* *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. February 1999, vol. 51, issue 2, pag. 193-200

5. CHATTERJEE, Shyam Sunder, ERDELMEIER, Clemens et al. *Stable hyperforin salts, method for producing same and their use in the treatment of alzheimer's disease*. United States Patent 6444662. Application Number: 09/622151. Publication date: 09/03/2002

6. CASIAN, I., CASIAN, A., VALICA, VI. *Elaborarea metodei HPLC pentru studiu fitochimic al speciei HYPERICUM PERFORATUM L.* *Anale științifice ale USMF "Nicolae Testemițanu" – "Probleme medicobiologice, farmaceutice și de sănătate publică"*. Chișinău, 2009, v. 1, p. 327-332

7. CASIAN, I., TODIRAȘ, M., CASIAN, A. și al. *Obținerea extractului fluid și a siropului de păducel cu acțiune antihipertensivă*. In: *Intellectus*, 2011, vol. 2, p. 103-108

REZUMAT

În prezenta lucrare se descrie un nou procedeu de obținere a sării dietilamoniu de hiperforină, nemijlocit din extractele hidroalcoolice ale herbei de sunătoare, fără o izolare preliminară a hiperforinei în stare pură. Procedeu constă în înlăturarea preliminară din extract a unei părți considerabile din acizii organici și compușii fenolici, prin tratarea lui cu soluție hidroxid de sodiu, cu eliminarea ulterioară a alcoolului și formarea sării dietilamoniu de hiperforină în stare cristalină. S-au studiat proprietățile fizico-chimice ale substanței obținute.

Procedeu elaborat este destul de simplu și economic și va permite efectuarea studiului farmacologic și implementarea acestei substanțe în industria chimico-farmaceutică. De asemenea, este descrisă procedura de purificare, după care sarea dietilamoniu de hiperforină poate fi utilizată în calitate de substanță de referință.

Cuvinte-cheie: *Hypericum perforatum L.*, izolarea hiperforinei, sarea dietilamoniu de hiperforină.

ABSTRACT

In the present work a new way of obtaining the diethylammonium salt of hyperforin immediately from hydro-alcoholic extracts of *Hypericum perforatum*, without preliminary isolation of hyperforin in the pure state is described. The procedure consists in the preliminary disposal of the most organic acids and phenolic bonds from the extract by treating with sodium hydroxide solution followed by alcohol removal and formation of crystalline diethylammonium salt of hyperforin. Physical and chemical properties of the obtained substance have been studied.

The developed procedure is simple, economic and will allow to carry out pharmacological researches and to introduce this substance in the pharmaceutical industry. It is also described the purification procedure after which the diethylammonium salt of hyperforin can be used as a reference substance.

Keywords: *Hypericum perforatum L.*, hyperforin isolation, diethylammonium salt of hyperforin.