

**ОСОБЛИВОСТІ ЕКСТРАКЦІЇ ГІПЕРФОРИНУ
ІЗ ТРАВИ ЗВІРОБОЮ ЗВИЧАЙНОГО (*HYPERICUM PERFORATUM* L.)**

Поштаренко А. В.¹, к. т. н., доцент кафедри біотехнології
<https://orcid.org/0000-0002-3999-4474>

Супрунук М. В.¹, магістр кафедри біотехнології
<https://orcid.org/0009-0002-6126-9276>

Решетняк Л. Р.¹, к. т. н., доцент кафедри біотехнології
<https://orcid.org/0000-0002-0049-4851>

Данілова К. О.², к. т. н., с. н. с., учений секретар інституту?
<https://orcid.org/0000-0001-6204-9975>

¹Національний авіаційний університет, Київ, Україна

²Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна

<https://doi.org/10.31073/foodresources2024-23-16>

Предмет. Звіробій продірявлений, або звичайний (*Hypericum perforatum* L.) належить до лікарських рослин, відноситься до родини Звіробоеві (*Hypericaceae*). Комерційний попит на гіперфорин призвів до збільшення досліджень стосовно особливостей його екстракції зі звіробою звичайного за допомогою різних екстрагентів. Через нестабільність умов екстракції досить важко дослідити закономірності накопичення гіперфорину в рослинній сировині. **Мета.** Дослідження вмісту гіперфорину із звіробою звичайного при різних параметрах екстракції та при використанні різних екстрагентів. **Методи.** Визначення оптичної густини отриманих екстрактів із звіробою звичайного проводили на фотокolorиметрі КФК-3 (Україна) з подальшим перерахунком на гіперфорин. **Результати.** Екстракцію гіперфорину із звіробою звичайного проводили за допомогою гексану та етилового спирту різної концентрації. Отримані результати фотокolorиметрії екстрактів показали, що оптимальними умовами екстракції похідних гіперфорину із трави звіробою звичайного є 60-хвилинна екстракція гексаном при співвідношенні сировини і розчинника 1:100 з вмістом похідних гіперфорину 1,100%. Серед спиртових екстрактів найкращими умовами екстракції похідних гіперфорину зі звіробою звичайного була 60-хвилинна екстракція 80% розчином етилового спирту при співвідношенні сировини і розчинника 1:100 з вмістом похідних гіперфорину 0,437%. **Сфера застосування результатів.** Результати досліджень можуть бути використані для розробки харчових продуктів функціонального призначення або нових лікарських засобів із трави звіробою звичайного.

Ключові слова: екстракція, звіробій звичайний, гіперфорин, гексан, етиловий спирт, оптична густина

**FEATURES OF THE EXTRACTION OF HYPERFORIN
FROM THE SAINT-JOHN'S WORT HERBS (*HYPERICUM PERFORATUM* L.)**

Anna Poshtarenko¹, PhD, Engineering,
Associate Professor of the Department of Biotechnology
<https://orcid.org/0000-0002-3999-4474>

Myroslava Suprunyuk¹, Student
<https://orcid.org/0009-0002-6126-9276>

Liudmyla Reshetnyak¹, PhD, Engineering,
Associate Professor of the Department of Biotechnology
<https://orcid.org/0000-0002-0049-4851>

Kateryna Danilova², PhD, Engineering, Senior Researcher,
Learned Secretary of Institute

¹National Aviation University, Kyiv, Ukraine

²Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

Subject. *Hypericum perforatum* L. belongs to medicinal plants, belongs to the family of Hypericaceae. The commercial demand for hyperforin has led to increased research on the specifics of its extraction with St. John's wort using various extractants. Due to the instability of the extraction conditions, it is rather difficult to investigate the patterns of hyperforin accumulation in plant material. **Purpose.** Study of the content of hyperforin with St. John's wort at different extraction parameters and

when using different extractants. **Methods.** Determination of the optical density of the obtained extracts with *St. John's wort* was carried out on a photocolormeter KFK-3 (Ukraine) with subsequent conversion to hyperforin. **Results.** Extraction of *St. John's wort* to obtain hyperforin was carried out using hexane and ethyl alcohol of different concentrations. The obtained results of photocolormetry of the extracts showed that the optimal conditions for the extraction of hyperforin derivatives from *St. John's wort* are 60-minute extraction with hexane at a ratio of raw materials and solvent of 1:100 with a content of hyperforin derivatives of 1.100%. Among alcohol extracts, the best conditions for the extraction of hyperforin derivatives from *St. John's wort* were a 60-minute extraction with an 80% solution of ethyl alcohol at a ratio of raw materials and solvent of 1:100 with a content of hyperforin derivatives of 0.437%. **Scope of results.** The results of the research will be used to develop functional food products or new medicines from the herb *Hypericum Perforatum L.*

Key words: extraction, *Hypericum perforatum L.*, hyperforin, hexane, ethyl alcohol, optical density

Постановка проблеми. *Hypericum perforatum L.* широко відомий як звіробій, має багату історичну історію як один із найдавніших і найбільш широко вивчених рослинних лікарських засобів. Гіперфорин є основною антидепресивною діючою речовиною звіробою. В останні роки гіперфорину приділяється все більша увага через його численні фармакологічні властивості, включаючи антидепресивну, протипухлинну, деменцію, діабет та інші. Його можна отримати під час процесу екстракції та синтезу. Фармакологічні дослідження та більш точні методи виявлення допоможуть в подальшому систематизувати знання щодо гіперфорину. Крім того, структурна модифікація та технологія фармацевтичного приготування будуть сприяти розвитку досліджень інноваційних препаратів на основі гіперфорину [1].

Гіперфорин зазвичай міститься в рослинах родини *Hypericum*, а вміст гіперфорину в звіробої є значним. Крім того, гіперфорин був також виявлений у *H. montbretii Spach*, *H. perforatum L.*, *H. hirsutum L.*, *H. nummularioides Trautv.*, *H. bithynicum Boiss.*, *H. Xylosteifolium* та *H. androsaemum L.* Вміст гіперфорину у *H. montbretii Spach* та *H. Perfoliatum* подібний до такого у звіробою. [1]

Звіробій звичайний – багаторічна рослина, висота якої коливається в межах 25–100 см. Стебло рослини двогранне, у верхній частині розгалужується. Звіробій покритий супротивними листками овальної або яйцевидної форми, їхня довжина – 1,5–3 см. Квітки рослини п'ятичленні, зібрані в щитовидні суцвіття, їхнє забарвлення варіюється від жовтого до помаранчевого. З лікувальною метою використовують траву рослини, зібрану в період цвітіння звіробою, який припадає на червень–серпень [2].

Відрізнити траву від інших рослин можна за кількома ознаками. Якщо розглядати проти світла молоде листя звіробою, можна відзначити маленькі крапки, немов вони були продірявлені. Другою відмітною ознакою є зміна забарвлення квіток рослини, якщо їх зім'яти в руках. З жовтого вони стають криваво-червоними. Ще однією особливістю звіробою стало будова стебла – на відміну від більшості рослин, воно двогранне [3].

Звіробій містить в собі дубильні речовини (10–12%), флавоноїди (гіперозид, рутин, кверцитрин, мірицетин, лейкоантоціани), сапоніни, барвники (гіперидин – 0,1–0,4%, псевдогіперидин, гіперин, франгулаемодинантрал), олію ефірну (0,2–0,3%), речовини смолисті (17%), каротин, кислоту аскорбінову [4]. Поєднання перерахованих речовин забезпечує протизапальну і легку протимікробну дію разом зі здатністю подразнювати стінки слизової, що стимулює секрецію внутрішніх органів. Здатність загоювати рани та дезінфікувати їх дозволяє використовувати компреси зі звіробою для лікування інфікованих ран. Вони можуть застосовуватися для кровоточивих ран, оскільки у складі трави присутні в'язучі інгредієнти.

Трава звіробою входить до складу численних зборів, схвалених для використання в лікуванні захворювань шлунково-кишкового тракту. Його також включають до складу дієтичних добавок і косметичних засобів. Звіробою властивості комплексні, ними обумовлена популярність цієї рослини – чаї, настої та відвари з неї впливають на нервову, травну і сечовидільну систему.

З 450 видів звіробоя в Україні поширені всього 12. Для лікарських цілей з них підходять два види – звіробій звичайний і чотиригранний, або плямистий звіробій. Ці рослини мають оптимальний склад і концентрацію корисних речовин, тоді як інші види можуть поєднувати в собі мінімальне співвідношення лікувальних властивостей [3].

Рослина поширена повсюдно, зустрічається на узбіччях доріг, у чагарниках, на пустирях і лісових галявинах, насипах, надає перевагу як листяним, так і мішаним лісам лісостепу, також зустрічається в степовій зоні. Для поширення йому необхідні сухі ґрунти. При вирощуванні рослини для лікарських цілей необхідно враховувати її здатність швидко виснажувати ґрунт, тому її потрібно регулярно удобрювати [5].

Заготівля трави проводиться в суху ясну погоду, щоб уникнути псування сировини від вологості. Готовність рослини до збору визначають за станом плодів, які повинні бути незрілими. Для заготівлі зрізають верхню частину рослини довжиною не більше 25–30 см. Зрізають її за допомогою ножа або секатора.

Зібрану сировину сушать під навісом або на горищі при температурі, яка не перевищує 40 °C. Для цього траву можна розкласти тонким шаром на папері або тканині чи пов'язувати в пучки. Готовність сировини визначається за її ламкістю. Зберігати її можна 3 роки. [6]

Звіробій готують у вигляді настоїв для обробки рота при стоматитах, кровоточивості ясен, запальних процесах. Відвар рослини дозволяє позбутися неприємного запаху з рота, усунути кровоточивість ясен. Він може застосовуватися як профілактичний засіб для запобігання пародонтиту.

Екстракт виготовляють із лікарської рослинної сировини підходящим методом, використовуючи етанол (50–80%, об/об) або метанол (50–80%, об/об). [7, с. 165].

Діючі речовини трави звіробоя представлені декількома групами природних з'єднань, серед яких виділяють флавоноїди, антраценпохідні, а також гіперфорин та його похідні. Фармакопея України передбачає стандартизацію трави звіробоя за вмістом суми флавоноїдів [7, с. 162], Європейська фармакопея стандартизує траву звіробоя звичайного за вмістом суми похідних антрацену [8]. За вмістом гіперфорину, який володіє антибактеріальною активністю, стандартизуються тільки деякі комерційні екстракти звіробоя, які призначені для виробництва біологічно активних добавок. З іншого боку, похідні гіперфорину описані тільки для одного виду звіробоя, отримання екстрактів якого передбачає використання в якості екстрагенту гексану.

Вміст гіперфорину в різних частинах рослин *Hypericum* і на різних стадіях росту неоднаковий. Вміст гіперфорину, накопиченого в стеблах і листі, значно нижчий, ніж у зелених коробочках і повністю розкритих квітках (табл. 1) [1].

Таблиця 1
Вміст похідних гіперфорину в різних органах *H. perforatum*

Трава	Листя	Квітки
1,3	1,2	2,8

Проблема полягає в тому, що гіперфорин – одна із цінних речовин звіробоя, але його нестабільність створює певні труднощі при вилученні, розділенні та виявленні. Через нестабільність умов екстракції досить важко дослідити закономірності вилучення гіперфорину із звіробоя звичайного. Використовуючи різні екстрагенти та змінюючи умови екстракції можна дослідити оптимальний вміст гіперфорину в рослинній сировині.

Метою роботи є кількісне визначення та порівняння вмісту гіперфорину із звіробоя звичайного в гексановому та етилових екстрактах різної концентрації при певних умовах екстракції.

Матеріали та методи. В якості об'єкта дослідження використовували екстракти із звіробоя звичайного компанії «Ліктрави» (м. Житомир, Україна), отримані на основі етилового спирту концентрацією 20, 40, 60 та 80% та гексану.

Нами була обрана методика кількісного визначення гіперфорину та його похідних, яка полягала в тому, що аналітичну пробу сировини подрібнюють до розміру 1 мм. 1 г

сировини поміщають в колбу об'ємом 250 мл, додають 100 мл відповідного екстрагента. Колбу витримують в темному місці 30 та 60 хв, фільтрують через паперовий фільтр в мірну колбу об'ємом 100 мл, доводячи об'єм розчину до мітки відповідним екстрагентом.

Отриманий розчин в кількості 5 мл вносять в мірну колбу об'ємом 25 мл та доводять об'єм розчину до мітки відповідним екстрагентом. Визначення оптичної густини отриманих екстрактів проводили на фотоколориметрі КФК-3 (Україна) з кюветою товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 278 нм, використовуючи в якості розчину порівняння відповідний екстрагент.

Результати та обговорення. Розчинники впливають на стабільність гіперфорину. У протонних розчинниках гіперфорин стабільний, але в *n*-гексані та інших інертних розчинниках він нестійкий. У *n*-гексані два ізомери фуругіперфорину є основними продуктами розпаду. рН розчинів також впливає на стабільність гіперфорину. Встановлено, що гіперфорин є більш стабільним у кислому середовищі, ніж у нейтральному, при екстрагуванні на світлі. Підкислений розчин метанолу є більш дієвим для підтримки стабільності гіперфорину, ніж розчин метанолу окремо. Крім того, 1% аскорбінової кислоти та 0,1% лимонної кислоти можна використовувати як антиоксиданти для підтримки його стабільності. [1]

Ультрафіолетовий (УФ) спектр гіперфорину залежить від значень рН навколишнього середовища. Однак при 270 нм на реакцію гіперфорину значення рН не впливає сильно. Варто відзначити, що на стабільність гіперфорину впливає його особлива структура. Гіперфорин нестійкий до світла і легко окислюється. Висушені рослинні матеріали втрачають 20% гіперфорину протягом 2 годин впливу сонячного світла (24 Е/м²). Експозиція екстракту сонячним світлом протягом 5 хвилин (1 Е/м²) призводить до 96% втрати гіперфорину. Гіперфорин є нестабільним при температурі повітря 40°C, де утворюються два основних продукти розпаду (фуругіперфорин і гідропероксид фуругіперфорину). [1]

В роботі було використано спектрофотометричний метод, який базується на вибірковій екстракції гіперфорину та його похідних гексаном та етиловим спиртом, вимірюванні оптичної густини отриманих екстрактів при 278 нм і використанні для розрахунків молярного показника поглинання гіперфорину при даній довжині хвилі.

Було визначено оптимальні умови екстракції гіперфорину і його похідних по відношенню сировини до екстрагенту (табл. 2).

Таблиця 2

Залежність виходу похідних гіперфорину із трави *Hypericum perforatum* L. від типу екстрагента та умов екстракції

Співвідношення сировини (г) – екстрагент (см ³)	Час екстракції, хв	Вміст суми похідних гіперфорину в перерахунку на гіперфорин, %
Гексан (1:100)	30 хв (20 °C)	1,000
	60 хв (20 °C)	1,100
Етиловий спирт 20% (1:100)	30 хв (20 °C)	1,326
	60 хв (20 °C)	1,339
Етиловий спирт 40% (1:100)	30 хв (20 °C)	1,294
	60 хв (20 °C)	1,459
Етиловий спирт 60% (1:100)	30 хв (20 °C)	1,349
	60 хв (20 °C)	1,365
Етиловий спирт 80% (1:100)	30 хв (20 °C)	1,504
	60 хв (20 °C)	1,518

Отримані результати фотоколориметрії показали, що оптимальними умовами екстракції похідних гіперфорину із трави звіробоя звичайного є 60-хвилинна екстракція

80% розчином етилового спирту при співвідношенні сировини і розчинника 1:100, з можливістю отримання похідних гіперфору 1,518%. Серед гексанових екстрактів найкращими умовами екстракції похідних гіперфору зі звіробоя звичайного була 60-хвилинна екстракція при співвідношенні сировини і розчинника 1:100, дало змогу отримати похідних гіперфору 1,100%.

Для додаткового підтвердження наявності гіперфору в екстрактах *H. perforatum* нами були встановлені УФ-спектри гексанових та спиртових екстрактів (рис.1).

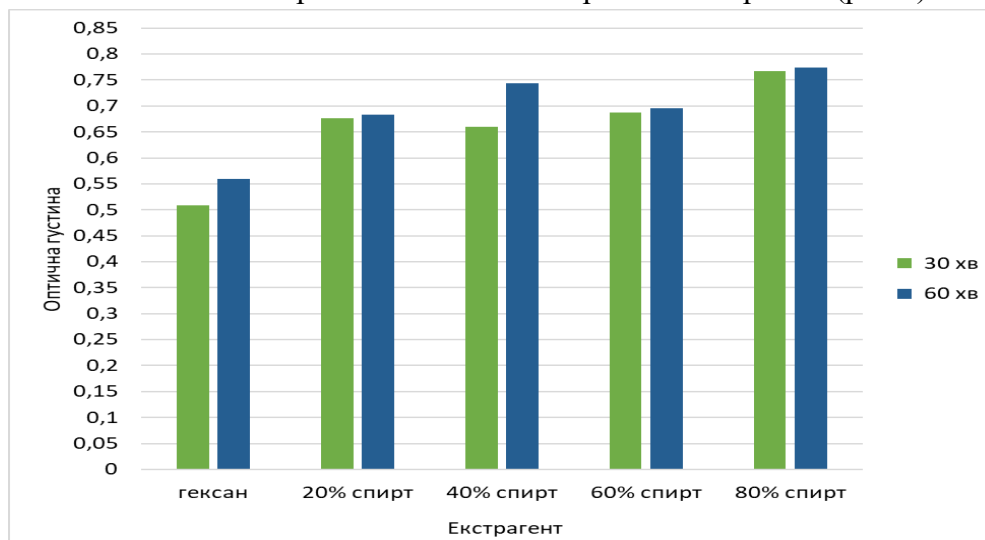


Рис. 1. УФ-спектри гексанових та спиртових екстрактів при 278 нм

Отримані УФ-спектри стали ще одним підтвердженням того, що УФ-спектр екстракту із 80% етилового спирту має чітко виражений максимум при тривалості екстракції 60 хв, тоді як у гексановому екстракті він був мінімальний.

Висновки. Гіперфорин – основна діюча речовина лікарської трави – *Hypericum perforatum* L. Його унікальна хімічна структура та біологічна активність привертають увагу багатьох вчених. Нестабільність гіперфору до світла, температури, екстрагентів створює певні труднощі для його вилучення, розділення та виявлення.

Кількісне визначення похідних гіперфору із трави звіробоя звичайного в 80% розчині етилового спирту показало, що найкращими умовами екстракції є 60-хвилинна екстракція при кімнатній температурі у співвідношенні сировини до екстракту 1:100 з виходом гіперфору 1,518%.

Умовами оптимальної екстракції з найбільшим виходом похідних гіперфору із звіробоя звичайного в кількості 1,1% серед гексанових екстрактів є 60-хвилинна екстракція при співвідношенні сировини до спирту 1:100.

Встановлено залежність виходу гіперфору із трави звіробоя звичайного від типу екстрагента та умов проведення процесу екстракції, яка показує, що найкращим екстрагентом гіперфору є етиловий спирт, а саме 80% його розчин, тривалість екстракції 60 хв при кімнатній температурі.

Дані фармакокінетичні дослідження можуть бути використані для розробки харчових продуктів функціонального призначення або нових лікарських засобів із звіробоя звичайного.

Бібліографія

1. Xin-Xin Li, Yu Yan, Jia Zhang, Kang Ding, Cong-Yuan Xia, Xue Ge Pan, Yan-Jing Shi, Jie-Kun Xu, Jun He, Wei-Ku Zhang (2023). Hyperforin: A natural lead compound with multiple pharmacological activities. *Phytochemistry*. Volume 206. February 2023. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113526> (дата звернення 20.09.2024).

2. Звіробой трава. Ліктрави. <https://liktravy.ua/herbs/zviroboju-trava> (дата звернення 20.09.2024).

3. Лебеда А. П., Джуренко Н. І., Ісайкіна О. П. та ін. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник: за ред. Гродзінського А. М. К.: Видавництво «Українська Енциклопедія» ім. М. П. Бажана, Український виробничо-комерційний центр «Олімп», 1992. 544 с.

4. Кобзар А. Я. Фармакогнозія в медицині: навчальний посібник. К: Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина». 2007, 544 с.

5. Калініна М. А., Шевченко Т. Л. Вплив регуляторів росту на ріст і розвиток деяких лікарських рослин. Лікарське рослинництво: від досвіду минулого до новітніх технологій: матеріали шостої Міжнародної науково-практичної конференції, м. Полтава : Комунальне видавництво «Лубни», 2018. 268 с.

6. Біленко В. Г., Якубенко Б. Є. Лікарські рослини: технологія вирощування та використання: довідник. Житомир: ПП «Рута», 2015. 600 с.

7. Державна Фармакопея України. 2-е вид. Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. 600 с. ISBN 978-966-97390-3-2.

8. European Pharmacopoeia, 5th ed. Sup. 5.6. Strasbourg, 2005.

References

1. Xin-Xin Li, Yu Yan, Jia Zhang, Kang Ding, Cong-Yuan Xia, Xue Ge Pan, Yan-Jing Shi, Jie-Kun Xu, Jun He, Wei-Ku Zhang (2023). Hyperforin: A natural lead compound with multiple pharmacological activities. *Phytochemistry*. Volume 206. February 2023. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2022.113526>

2. Zviroboyu trava. [St. John's wort grass] Liktravy [medicinal herbs]. <https://liktravy.ua/herbs/zviroboju-trava> [in Ukrainian] (20.09.2024).

3. Lebeda A.P., Dghurenko N.I., Isaykina O.P (Grodzinskyi A.M. Ed) (1992) Likarski roslyny: Enciklopedychnyi dovidnyk [Medicinal plants: Encyclopedic guide] [in Ukrainian].

4. Kobzar A. Ya. (2007) Farmakognoziya v medycini: navchalnyi posibnyk [Pharmacognosy in medicine: study guide]. Kyiv: Vseukrainske specializovane vydavnytstvo "Medycina". 544 p. [in Ukrainian].

5. Kalinina M. A., Chevtchenko T. L. (2018) Vplyv regulyatoriv rostu na rist i rozvytok deyakyh likarskyh Roslyn [The influence of growth regulators on the growth and development of some medicinal plants]. Likarske roslynnnytvo: vid dosvidu mynulogo do novitnih tehnologiy: materialy VI Mighnarodnoi naukovo-praktychnoi konferencii. Poltava: Komunalne vydavnytstvo "Lubny" [Municipal publishing house "Lubny"]. 268 p. [in Ukrainian]

6. Bilenko V. G., Yakubenko B. Ye. (2015) Likarski roslyny: tehnologiya vyroschuvannya ta vykorystannya: dovidnyk [Medicinal plants: cultivation and use technology]. Gytomir: [Ruta]. 600 p. [in Ukrainian].

7. Derghavna Farmakopeya Ukrainy [State Pharmacopoeia of Ukraine] Harkiv: Derghavne pidpryemstvo "Ukrainskyi naukovyi farmakopeyniy centr yakosti likarskyh zasobiv [State enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality of Medicinal Products"]. 2nd edition Addendum 2. 600 p. [in Ukrainian].

8. European Pharmacopoeia, 5th ed. Sup. 5.6. Strasbourg, 2005.