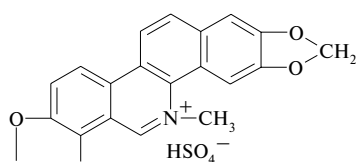


Е. А. Абизов, О. Н. Толкачев, И. Е. Копылова, А. Н. Луферов

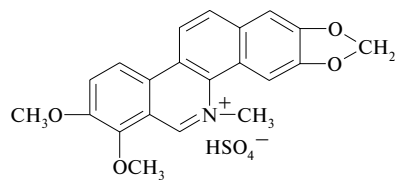
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАГЕНТА НА ПРАКТИЧЕСКИЙ ВЫХОД БЕНЗО[С]ФЕНАНТРИДИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ ИЗ ЛИСТЬЕВ *MACLEAYA MICROCARPA (MAXIM) FEDDE* И *BOCCONIA FRUTESCENS L.*

Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова;
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений
РАСХН, Москва

Многие представители семейства *Papaveraceae* Juss., являются перспективными источниками алкалоидов изохинолиновой группы [1]. К ним относятся четвертичные бензо[с]фенантридиновые производные сангвинарин ($C_{20}H_{14}O_4N^+ SO_4H^-$) и хелеритрин ($C_{21}H_{18}O_4N^+ SO_4H^-$), используемые в фармацевтической промышленности ряда стран мира для производства antimicrobных препаратов, а также дезинфицирующих средств [2]. Сотрудниками Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений в середине 70-х гг разработан препарат “Сангвиритрин”, субстанцией которого является смесь бисульфатов этих алкалоидов, находящаяся приблизительно в эквимольной пропорции (1:1 или 1:2) [3].



Сангвинарин



Хелеритрин

Препарат обладает широким спектром antimicrobного действия, иммуностимулирующей, а также антихолинэстеразной активностью [4].

В России источником сырья для производства Сангвиритрина используется трава интродуцированных восточно-азиатских видов рода *Macleaya* R. Br. — *M. cordata* (Willd) R. Br. и *M. microcarpa* (Maxim.) Fedde (ФС 42 – 2666 – 89).

Зарубежными аналогами препарата являются: Санхелин (Чехия), в качестве сырья для производства которого используется трава *Chelidonium majus L.*, и Сангвинарина гидрохлорид (США), получаемый из корней *Sanguinaria canadensis L.* [2].

В 1996 году была показана возможность использования представителей рода *Bocconia L.*, как дополнительных источников бензо[с]фенантридиновых алкалоидов [1]. Однако исчерпывающих материалов по количественному содержанию суммы сангвинарина и хелеритрина у этих растений в литературе нам найти не удалось.

Исходя из этого возникла необходимость в сравнительном изучении количественного содержания этих соединений в листьях *Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde и *Bocconia frutescens L.* с целью определения целесообразности использования последней в качестве возможного сырьевого источника.

В настоящей работе нами проводилось исследование влияния различных экстрагентов и режимов экстракции на практический выход суммы этих алкалоидов.

Образцы листьев для данного исследования были получены от 3-х летних растений, выращенных из семян в одинаковых агротехнических условиях. Семена, полученные по дилектусу: *Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde из Botanical Garden of Palacký University Czech Republic и *Bocconia frutescens L.* — National Botanic Garden of Belgium, были любезно предоставлены А. Н. Цицилиным, за что мы выражаем ему свою признательность.

Заготовку материала осуществляли согласно нормативной документации по сбору и сушке соответствующего сырья.

Проводилось изучение влияния экстрагентов, используемых для изохинолиновых алкалоидов: хлороформа [2], дихлорэтана [5], 80 % водного этанола [6], смеси разнополярных растворителей хлороформ – этанол (1:1) [7] на количественный выход суммы действующих веществ и скорость их экстракции в зависимости от температуры, плотности загрузки, измельченности сырья, а также соотношения массовых частей (сырье – экстрагент).

Экспериментальная часть

Навеску (2,5; 5; 10 г) измельченного и просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 1, 3 или 7 мм сырья помещали в коническую колбу вместимостью 250 мл с притертой пробкой, добавляли 5 мл 25 % раствора гидрата окиси аммония, тщательно перемешивали стеклянной палочкой до полного увлажнения, закрывали стеклянной пробкой и оставляли при температуре – 20 °С на 30 мин, затем добавляли 100 мл экстрагента, закрывали пробкой и помещали в термостат на 1 – 24 ч, определяя скорость экстракции в зависимости от растворителя (см. табл. 1). Затем пипеткой отбирали 50 мл экстракта, переносили в круглодонную колбу на 100 мл и производили отгон растворителя на роторном испарителе Watterbath-480, фирмы Büchi (Швейцария) под вакуумом при температуре во-

Таблица 1
Влияние температуры на скорость экстракции измельченных листьев *Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde и *Bocconia frutescens* L.

Экстрагент	Время полной экстракции, ч, при температуре		Выход суммы алкалоидов сангвинарина и хелеритрина в %	
	20 °С	40 °С	<i>Macleaya microcarpa</i>	<i>Bocconia frutescens</i>
Хлороформ	8	2,5	1,33 ± 0,03	1,71 ± 0,03
Дихлорэтан	10	4	1,45 ± 0,05	1,83 ± 0,05
60 % этанол	12	5	1,21 ± 0,04	1,65 ± 0,03
CHCl ₃ -C ₂ H ₅ OH	10	3	1,50 ± 0,03	1,87 ± 0,01

дьяной бани 60–90 °С. Сухой остаток растворяли в 5 мл хлороформа. На линию старта хроматографической пластинки фирмы Merck G-60-TLC на стеклянной подложке размером 10 × 10 наносили микропипеткой на три полосы по 0,07 мл полученного раствора, затем 0,01 мл — 25 % раствора гидрата окиси ам-

мония. Высушенную в течение 20 мин пластинку помещали в насыщенную в течение 1 ч камеру со смесью растворителей хлороформ – этанол (90:10) и хроматографировали восходящим способом при температуре 25 °С. После этого зоны сорбента, содержащие сангвинарин и хелеритрин (соответственно оранжевого и желтого цвета, $R_f \sim 0,6$), количественно переносили в три колбы вместимостью по 50 мл со шлифами, прибавляли по 10 мл подкисленного 1 % H₂SO₄ этанола, перемешивали в течение 5 мин, затем сливали в центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 20 мин. Количественное определение алкалоидов проводили, согласно ФС 42 – 2666 – 89 — спектрофотометрическим методом, на регистрирующем спектрофотометре EP-3T фирмы Hitachi, при длине волны 452 нм.

Из табл. 1 видно, что хлороформ превосходит другие растворители по скорости экстрагирования, однако по полноте экстракции уступает смеси хлороформ – этанол.

Таблица 2
Практический выход суммы алкалоидов сангвинарина и хелеритрина в % из листьев при разных способах экстрагирования

Условия экстракции		<i>M. microcarpa</i>		<i>B. frutescens</i>	
		<i>M. microcarpa</i>	<i>B. frutescens</i>	<i>M. microcarpa</i>	<i>B. frutescens</i>
Хлороформ					
Температура экстракции, °С	20	1,33 ± 0,03	1,71 ± 0,05	1,45 ± 0,03	1,83 ± 0,03
	40	1,41 ± 0,01	1,79 ± 0,02	1,56 ± 0,02	1,90 ± 0,03
	60	–	–	1,48 ± 0,03	1,87 ± 0,03
Плотность загрузки ρ, г/см ³	0,25	1,39 ± 0,05	1,80 ± 0,03	1,53 ± 0,03	1,89 ± 0,01
	0,5	1,33 ± 0,04	1,71 ± 0,03	1,45 ± 0,01	1,83 ± 0,03
	1,0	0,67 ± 0,02	0,86 ± 0,02	0,73 ± 0,03	0,92 ± 0,02
Измельченность D, мм	1	1,33 ± 0,04	1,71 ± 0,05	1,45 ± 0,02	1,83 ± 0,03
	3	1,29 ± 0,03	1,66 ± 0,03	1,45 ± 0,03	1,83 ± 0,03
	7	1,18 ± 0,03	1,54 ± 0,03	1,43 ± 0,02	1,82 ± 0,03
Соотношение массовых частей сырья – экстрагент	1:15	0,67 ± 0,02	0,86 ± 0,02	0,73 ± 0,03	0,92 ± 0,02
	1:30	1,33 ± 0,04	1,71 ± 0,03	1,45 ± 0,01	1,83 ± 0,03
	1:60	1,39 ± 0,03	1,80 ± 0,03	1,53 ± 0,03	1,89 ± 0,01
80 % этанол					
Температура экстракции, °С	20	1,21 ± 0,05	1,65 ± 0,05	1,50 ± 0,02	1,87 ± 0,03
	40	1,33 ± 0,03	1,71 ± 0,03	1,53 ± 0,01	1,89 ± 0,01
	60	1,27 ± 0,02	1,66 ± 0,02	1,24 ± 0,03	1,42 ± 0,03
Плотность загрузки ρ, г/см	0,25	1,28 ± 0,04	1,69 ± 0,03	1,54 ± 0,01	1,89 ± 0,01
	0,5	1,21 ± 0,03	1,65 ± 0,03	1,50 ± 0,01	1,87 ± 0,01
	1,0	0,61 ± 0,03	0,83 ± 0,03	0,75 ± 0,03	0,94 ± 0,03
Измельченность D, мм	1	1,21 ± 0,03	1,65 ± 0,03	1,50 ± 0,03	1,87 ± 0,03
	3	1,08 ± 0,03	1,52 ± 0,03	1,47 ± 0,03	1,84 ± 0,03
	7	0,94 ± 0,03	1,38 ± 0,03	1,39 ± 0,03	1,83 ± 0,03
Соотношение массовых частей сырья – экстрагент	1:15	0,61 ± 0,03	0,83 ± 0,03	0,75 ± 0,03	0,94 ± 0,03
	1:30	1,21 ± 0,03	1,65 ± 0,03	1,50 ± 0,01	1,87 ± 0,01
	1:60	1,28 ± 0,04	1,69 ± 0,03	1,54 ± 0,01	1,89 ± 0,01
CHCl₃ – C₂H₅OH					

Увеличение температуры с 20 до 40 °С ускоряет процесс экстракции (табл. 1), однако при дальнейшем увеличении до 60 °С наблюдается снижение выхода продукта (табл. 2).

Слабая тенденция к снижению полноты экстракции наблюдалась при увеличении размера частиц экстрагируемого сырья с 1 до 7 мм.

Выявлена корреляционная зависимость выхода продукта от плотности загрузки и массовом соотношении сырья к экстрагенту.

Оптимальные результаты были получены при плотности загрузки в интервале от 0,25 до 0,5 г/см³ и соотношении растворителей в среднем между 1:20 – 1:40 (см. табл. 2).

Наибольший выход суммы алкалоидов сангвинарина и хелеритрина был при экстрагировании CHCl₃–C₂H₅OH (1:1) из листьев *M. microcarpa* — 1,56 %, а *B. frutescens* — 1,89 %.

В результате проведенного исследования выяснилось, что из испытанных растворителей по выходу

суммы четвертичных бензо[с]фенантридиновых алкалоидов лучшие результаты показала смесь разнополярных растворителей хлороформ – этанол.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Челомбитько, О. Н. Денисенко, *Химико-фармацевтическое производство: Обзорн. информ.*, Вып. 2, НИИЭМП, Москва (1996), сс. 12 – 16.
2. В. С. Фонин, Н. С. Цибулько, О. Н. Толкачев, *Приклад. биохимия и микробиол.*, **33**(4), 468 – 472 (1999).
3. В. В. Адгина, С. А. Вичканова, О. Е. Ласская, *Хим.-фарм. журн.*, **10**(9), 64 – 67 (1976).
4. С. А. Вичканова, *Сангвиритрин. Методические рекомендации для специалистов*, ГУП “ПЭЗ ВИЛАР”, Москва (2002), сс. 1 – 24.
5. В. П. Захаров, Н. И. Либизов, Х. А. Асланов, *Лекарственные вещества и способы их производства*, Изд-во “Фан” УзССР, Ташкент (1980), сс. 136 – 138.
6. А. А. Савина, О. Н. Толкачев, О. Ф. Ласская и др., Патент России № 2089212 (1997), *Бюл. изобрет.*, № 25, 67 – 68 (1997).
7. Г. Н. Бузук, М. Я. Ловкова, Н. И. Гринкевич, *Приклад. биохимия и микробиол.*, **5**, 760 – 767(1980).

Поступила 26.12.02