

Die identifisering en isolering van potensiële bio-aktiewe verbindings afkomstig van *Hypoestes aristata* deur middel van gekoppelde moderne masjinerie

Authors:

Luki-Marié Scheepers,
V Maharaj, MA Selepe

Affiliations:

Departement Chemie,
Universiteit van Pretoria

Corresponding author:

Luki-Marié Scheepers
lukimarie.scheepers@gmail.com
Departement Chemie,
Universiteit van Pretoria,
Privaatsak X20, Hatfield,
0028

How to cite this article:

Luki-Marié Scheepers,
V Maharaj, MA Selepe, Die
identifisering en isolering
van potensiële bio-aktiewe
verbindings afkomstig van
Hypoestes aristata deur
middel van gekoppelde
moderne masjinerie,
*Suid-Afrikaanse Tydskrif
vir Natuurwetenskap en
Tegnologie* 37(1) (2018)

Copyright:

© 2018. Authors.
Licensee: *Die Suid-
Afrikaanse Akademie vir
Wetenskap en Kuns*. This
work is licensed under
the Creative Commons
Attribution License.

The identification and isolation of potential bioactive compounds from *Hypoestes aristata* by means of hyphenated modern instrumentation: Two compounds have been isolated from *Hypoestes aristata*, a South African endemic Acantheaceae perennial. These compound structures were elucidated with the use of hyphenated methods such as UPLC-QTOF-MS and HPLC-MS-SPE-TT/NMR. Only milligram amounts were required for the full characterization via 1D and 2D-NMR. The isolated compounds were found to have similar structures to a well investigated, bio-active compound.

Wêreldwyd is 70% van die medisyne wat op die mark beskikbaar is, op een of ander wyse van plante afkomstig. Deur raadpleging van tradisionele kenners oor die medisinale gebruik van plante, is 27 Suid-Afrikaanse plante in 2016 ondersoek vir bioaktiwiteit teen sensitiewe Leukemia (CCRF-CEM) en medikasiebestande Leukemia sellyne (CEM/ADR5000). Vir die bioaktiwiteit van *Hypoestes aristata*, is (IK_{50}) onderskeidelik bepaal as $2.28 \pm 0.16 \mu\text{g/mL}$ en $3.8 \pm 1.5 \mu\text{g/mL}$.

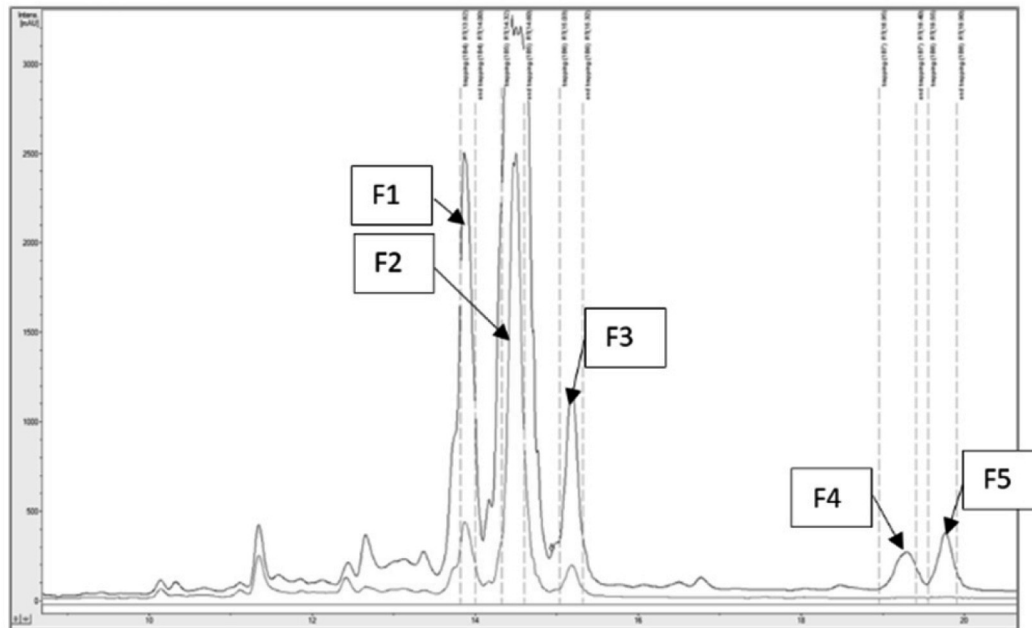
Hierdie studie het op die struktuurbevestiging van verbindings vanuit dié endemiese struik gefokus. Die blomplant vorm deel van die Acantheaceae familie, en is deur tradisionele geneesher beskryf as remediërend teenoor siektes met ingewikkelde meganismes van behandeling. Met kennis van die molekulêre profiel van die plant kan *in silico* snelsoeke deur bekende farmakofore sif om biblioteke van moontlike geneesmiddels vir kanker- of ander siektes te identifiseer. Deur later funksionaliteite en affiniteite van die plantkomponente te verander, kan die nuwe-effekte van medisyne verminder en bioaktiwiteit versterk word.

Verskillende klasseverbindings word in plante gevind, naamlik: terpene, flavonoïede, fenole en ligniene. Die algemene strukture hiervan het intrinsieke polariteite, en deur sekwenšiese maserasie met onderskeidelik heksaan, DCM, etiel-asetaat en laastens metanol, is verskeie tipes verbindings geëkstraheer, waar nie-polêre verbindings van polêre verbindings geskei is.

Na ekstraksie is die mengsels deur preparatiewe UUVK-KTVV-MS geanaliseer waardeur ekstrakte gekies is, gebaseer op die goeie resolusie van pieke. Die DCM-ekstrak is gekies vir verdere semi-suiwering deur kolomchromatografie. Slegs gekombineerde fraksies met min verbindings in die ekstrak is gekies vir verdere suiwering deur gekoppelde HUVK-MS-SFE/KMR. Klein hoeveelhede van die gekombineerde semi-gesuiwerde fraksies (1-3 milligram) is deur die masjiene gesuiwer op 'n omgekeerde-fase silika-kolom, waarna 3% van die materiaal op 'n spesifieke oomblik deur die MS geanaliseer is. Hierna is die gesuiwerde materiaal deur verskeie UV golflengtes waargeneem, en daarna het die materiaal na die soliede fase ekstraksiekomponent beweeg.

Deur vooraf te bepaal watter oplosmiddelgradiënt en drukstellings die beste skeiding tussen pieke gee, kon die tyd van eluasie van enkele pieke gekies word op die koppelvlak om die gesuiwerde verbinding in die soliede fase buisies vas te vang (Figuur 1). Maksimum hoeveelhede van die milligramgrootte ekstrak kon geïsoleer word deur 10 of selfs 30 van die akkurate, herhaalbare siklusse te herhaal. Gekose gesuiwerde verbindings kon dan met die outo-monsterverplaser in KMR-buisies verplaas word en met 'n 500 MHz KMR masjiene geanaliseer word met 1D en sommige met 2D-KMR metodes.

Nota: 'n Seleksie van referaatopsommings: Studentesimposium in die Natuurwetenskappe, 2–3 November 2017, Universiteit van Pretoria, Suid-Afrika. Reëlingskomitee: Prof Rudi Pretorius (Departement Geografie, Universiteit van Suid-Afrika); Dr Hertzog Bisset (Suid-Afrikaanse Kernenergie-korporasie – Necsa); Prof Marilé Landman (Departement Chemie, Universiteit van Pretoria).



FIGUUR 1: Onoorvleuelende gedeeltes van F1,2 en 3 is herhaaldelik in soliede fraksie buise vasgevang en deur KMR-metodes geanaliseer.

Konvensionele metodes het gram hoeveelhede gesuiwerde verbindings vir volle karakterisering nodig, wat baie groter hoeveelhede (10-20 kg) nie-droë plantmateriaal van die begin van die ondersoek vereis. Gekoppelde masjienerie maak dit moontlik om met 2.7 kg plantmateriaal, wat na verbinding-suiwering slegs uit milligram hoeveelhede bestaan, steeds volle struktuur-karakterisering te verkry. Die eienskap sal medisinale verbindingsidentifisering versnel en ook meer koste-effektief maak.

Na die studie kan aktiewe verbindings se ensiem-substraat affiniteite bepaal word, indien die betrokke ensieme bekend is. Die affiniteite kan dan verbeter word deur struktuurveranderinge aan te bring. Nadat die beste affiniteit verkry is, moet die struktuur aangepas word vir die beste absorpsie waar dit benodig sou word: deur die bloedstroom, of brein, ensovoorts. Kliniese toetse en verdere aanpassings kan 15 tot 20 jaar duur.