

Перспективи створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської

О.М.Кошовий, Є.О.Передерій,
О.П. Гудзенко, А.М.Ковальова, А.М.Комісаренко

Національний фармацевтичний університет, кафедра хімії природних сполук,
Луганський державний медичний університет, кафедра технології ліків, організації та економіки фармації
Харків, Луганськ, Україна

У результаті попереднього хімічного дослідження екстрактів з листя евкаліпта прутовидного та шавлії лікарської встановлено, що екстракти мають дуже схожий хімічний склад та містять похідні гідроксикоричної кислоти, кумарини, флавоноїди, поліфенольні сполуки, хлорофіли та терпеноїди. Встановлено кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин в екстрактах. Екстракт з листя шавлії лікарської виявляє антимікробну активність по відношенню до грампозитивних та грамотригативних бактерій та грибів, що свідчить про можливість створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської.

Ключові слова: шавлія лікарська, листя, спиртовий екстракт, антимікробна активність.

ВСТУП

У всіх без винятку країнах світу лікування інфекційних захворювань залишаються актуальною проблемою. За даними ВООЗ (WHO, 2008), смертність хворих унаслідок інфекційних хвороб займає друге місце у світі. Окрім цього більше мільйона летальних випадків зумовлено вже перенесеними інфекціями. Особливе місце серед їх збудників займає золотистий стафілокок (*Staphylococcus aureus*), який провокує не менш як 100 найнебезпечніших людських хвороб та характеризується високою резистентністю до більшості антибактеріальних препаратів.

У пошуках ефективних засобів боротьби із цією небезпечною інфекцією одним з найбільш перспективних напрямків є впровадження препаратів, які виявляють поряд з антибактеріальною дією також імунomodуючу активність, що характерно для рослинних засобів.

Вітчизняною фармацевтичною промисловістю в різних лікарських формах випускається антистафілококовий рослинний препарат «Хлорофіліпт» [1, 2]. Як відомо, основними діючими речовинами препарату є хлорофіли А, В та терпеноїди, зокрема 1,8-цинеол. Щорічно для його виробництва в Україну імпортується близько 25 тон листя евкаліпта, що робить українські фармацевтичні заводи залежними від іноземних постачальників.

Для зменшення цієї залежності із цінеолвмісної рослинної сировини, яка характерна для нашої кліматичної зони, нами для дослідження було обрано листя шавлії лікарської. Крім того ця рослина добре культивується в Україні.

Метою даної роботи було дослідити та порівняти якісний склад, кількісний вміст та антимікробну активність спиртових екстрактів з листя евкаліпта й шавлії лікарської та встановити можливість створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами дослідження були густі екстракти з листя евкаліпта прутовидного та шавлії лікарської, отримані шестикратною екстракцією 96% етанолом.

Для встановлення якісного складу екстрактів використовували загальноприйняті методи досліджень — якісні реакції, паперову (ПХ) та тонкошарову хроматографію (ТШХ) [3-5].

Гідроксикоричні кислоти та флавоноїди вивчали методом двомірної ПХ у порівнянні з вірогідними зразками гідроксикоричних кислот у системах н-бутанол — оцтова кислота — вода (4:1:2) та 5% оцтова кислота з наступною обробкою хроматограм парами аміаку [4, 5].

Для виявлення кумаринів екстракти хроматографували (ПХ) у системах хлороформ (формамід 25%) та гексан (формамід 25%) з наступним переглядом хроматограм у фільтрованому

УФ-світлі до та після обробки 10% спиртовим розчином гідроксиду калію.

Хлорофіли в екстрактах ідентифікували за допомогою двомірної ТШХ у системах гексан — ацетон (8:2) та гексан — ацетон (8:4) у порівнянні з достовірними зразками хлорофілів А і В, які мали червону флуоресценцію в УФ-світлі [5].

Для визначення терпеноїдів в екстрактах використовували метод ТШХ у системі етилацетат — толуол (10:90) з подальшим обприскуванням хроматограм розчином анісового альдегіду, нагріванням від 100°C до 105°C протягом 5-10 хв. і переглядом при денному світлі [3].

Кількісне визначення похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів, поліфенольних сполук та хлорофілів проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали в кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Hewlett Packard 8453 (США) за відповідної довжини хвилі. Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали у перерахунку на хлорогенову кислоту при довжині хвилі 327 нм; вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин — при довжині хвилі 417 нм після утворення комплексу з алюмінію хлоридом; вміст суми поліфенольних сполук у перерахунку на галову кислоту — при 270 нм; вміст хлорофілів — при 666 нм [6]. Для статистичної достовірності досліди проводили не менше 5 разів.

Вивчення антибактеріальної активності екстрактів проводили методом дифузії вагарв Інституті мікробіології та імунології ім. І.І.Мечнікова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ під керівництвом к.біол.н. Т.П.Осолодченко [7]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ, для оцінки активності препаратів використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* 9027 ATCC, *Basillus subtilis* ATCC 6633 та *Candida albicans* 885/653 ATCC. Для дослідження вико-

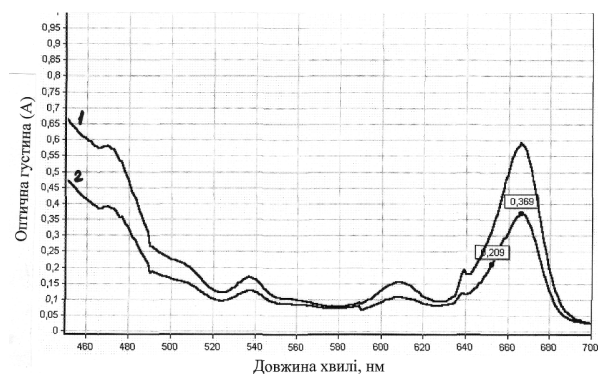


Рис. 1. Спектр поглинання спиртових екстрактів з листя евкаліпта прутувидного (1) та шавлії лікарської (2).

ТАБЛИЦЯ 1

Кількісний вміст основних груп БАР в екстрактах з листя евкаліпта прутувидного та шавлії лікарської

Група БАР	Кількісний вміст, %	
	Екстракт з листя евкаліпта прутувидного	Екстракт з листя шавлії лікарської
Хлорофіли	6,5±0,01	7,30±0,02
Поліфенольні сполуки	6,50±0,03	7,21±0,06
Гідроксикоричні кислоти	8,66±0,1	11,49±0,6
Флавоноїди	1,78±0,04	2,18±0,01

ристовували 1% спиртові розчини екстрактів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті попереднього хімічного дослідження екстрактів з листя евкаліпта та шавлії лікарської встановлено наявність таких груп біологічно активних речовин: похідних гідроксикоричної кислоти, кумаринів, флавоноїдів, поліфенольних сполук, хлорофілів та терпеноїдів.

При хроматографічному дослідженні похідних гідроксикоричних кислот у порівнянні з достовірними зразками в екстракті з листя евкаліпта прутувидного були ідентифіковані кавова, *n*-кумарова, ферулова, хлорогенова та неохлорогенова кислоти [6], а в екстракті з листя шавлії лікарської — кавова, ферулова, хлорогенова та неохлорогенова кислоти.

Методом ПХ в екстракті з листя евкаліпта прутувидного виявлено 5 речовин кумаринової природи, а в екстракті з листя шавлії лікарської — 4.

В екстракті з листя евкаліпта прутувидного хроматографічно в порівнянні з достовірними зразками було ідентифіковано 5 агліконів флавоноїдів (лютеолін, кемпферол, кверцетин, мірице-

ТАБЛИЦЯ 2

Антимікробна активність екстрактів з листя евкаліпта прутувидного та шавлії лікарської

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту, мм	
	Екстракт з листя евкаліпта прутувидного	Екстракт з листя шавлії лікарської
<i>S.aureus</i> 25923	17	18
<i>S.aureus</i> 6538	19	19
<i>E.coli</i> 25922	20	рост
<i>Proteus vulgaris</i> 4636	14	рост
<i>B.subtilis</i> 6633	21	19
<i>P.aeruginosa</i> 27853	16	рост
<i>P.aeruginosa</i> 9027	17	15
<i>S.pyogenosa</i> 2432	21	19
<i>Candida albicans</i> 885/653	20	18

тин, ізорамнетин), а в екстракті з листя шавлії лікарської — 3 (апігенін, лютеолін та кверцетин).

Методом ТШХ в обох екстрактах були ідентифіковані хлорофіли А та В. Крім того після обробки розчином анісового альдегіду та нагрівання на хроматограмах екстрактів у порівнянні зі стандартним зразком 1,8-цинеолу була виявлена основна зона, відповідна цинеолу.

Крім того нами був отриманий загальний спектр поглинання двох екстрактів в області від 450 до 700 нм (рис. 1). Спектри обох екстрактів майже ідентичні, що свідчить про схожість їх хімічного складу.

Результати визначення кількісного вмісту основних груп біологічно активних речовин (БАР), які були ідентифіковані в екстрактах, наведені в табл. 1.

Як видно з результатів, наведених у табл. 1, вміст основних груп БАР в екстракті з листя шавлії лікарської в 1,1-1,3 разу більше, ніж в екстракті з листя евкаліпта прутовидного, що вказує на перспективність подальшого вивчення екстракту з листя шавлії лікарської.

Результати дослідження антимікробної активності екстрактів наведені в табл. 2.

З табл. 2 видно, що екстракт з листя шавлії лікарської виявляє антимікробну активність по відношенню до *S.aureus*, *B.subtilis*, *S.pyogenosa* та *Candida albicans* майже однаково, та на відміну від екстракту з листя евкаліпта майже зовсім не впливає на *E.coli*, *Proteus vulgaris* та *Paeruginosa*.

ВИСНОВКИ

З результатів попереднього хімічного дослідження екстрактів видно, що екстракти мають дуже схожий хімічний склад. Визначено кількісний вміст основних груп біологічно активних речовин в екстрактах.

Екстракт з листя шавлії лікарської виявляє антимікробну активність по відношенню до грам-позитивних та грам-негативних бактерій та грибів, що свідчить про можливість створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пат. № 5242Україна, МПК А61К35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту / В.Л.Надтока, Н.Г.Божко, А.О.Грижко. — №2753048/SU; Заявл. 25.04.79; Опубл. 28.12.94, Бюл. №7-1.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т., 14-е изд. — М.: Новая волна, 2000. — 608 с.
3. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доп. 2. — Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.
4. Кореман Я.И. Анализ экстрактов фенолов методом тонкослойной хроматографии / Я.И.Кореман,

А.И.Крюков // Журнал аналитической химии. — 1990. — Т.45, Вып.6. — С. 1140-1144.

5. Георгиевский В.П., Казаринов Н.А., Карриев М.О. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения. — Ашхабад: Илим, 1976. — 239 с.
6. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О.М.Кошовий, А.М.Комісаренко, А.М.Ковальова, Л.М.Малоштан, І.М.Мудрик // Фармаком. — 2005. — № 2/3. — С. 151 — 161.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод рек. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Здоров'я, 2002. — С. 79-95, 292-306.

О.Н.Кошевой, Е.А.Передерий, А.П.Гудзенко, А.М.Ковалева, А.Н.Комиссаренко. Перспективы создания нового антибактериального средства из листьев шалфея лекарственного. Харьков, Луганск, Украина.

Ключевые слова: шалфей лекарственный, лист, спиртовой экстракт, антибактериальная активность.

В результате предварительного химического исследования экстрактов из листьев эвкалипта прутовидного и шалфея лекарственного установлено, что экстракты имеют похожий химический состав и содержат производные гидроксикоричной кислоты, кумарины, флавоноиды, полифенольные соединения, хлорофиллы и терпеноиды. Определено количественное содержание основных групп биологически активных веществ в экстрактах. Экстракт из листьев шалфея лекарственного проявляет антимикробную активность по отношению к грампозитивным и грамотрицательным бактериям и грибам, что указывает на возможность создания нового антибактериального средства из листьев шалфея лекарственного.

O.N.Koshevoy, E.A.Perederiy, A.P.Gudzenko, A.M.Kovaleva, A.N.Komissarenko. The prospects of creation a new antibacterial drug from *Salvia officinalis* leaves. Kharkiv, Lugansk, Ukraine.

Key words: *Salvia officinalis* leaves, spirits extract, antibacterial activity.

It was installed because of preliminary chemical studies of extracts from Eucalyptus viminalis and Salvia officinalis leaves that the extracts have a similar chemical composition and contain the derived hydroxycinnamic acids, cumarins, flavonoids, polyphenol compounds, chlorophylls and terpenoids. It was determined the quantitative contents of the main groups of biologically active substances in the extracts. The extract from Salvia officinalis leaves has antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria and fungus that points to possibility of the creation a new antibacterial drug from Salvia officinalis leaves.

Надійшла до редакції 15.11.2009 р.