

## Оптимізація процесу етилацетатної екстракції біологічно активних речовин з листя шавлії лікарської

О.М.Кошовий, Є.О.Передерій, О.П.Гудзенко, Т.П.Осолодченко,  
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

Проведено вивчення динаміки етилацетатної екстракції суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та хлорофілів з листя шавлії лікарської. При вивченні динаміки екстрагування суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та хлорофілів з листя шавлії лікарської проведено математичну обробку отриманих даних та визначено ефективний параметр тривалості процесу екстракції. Встановлено, що оптимальна кратність етилацетатної екстракції біологічно активних речовин у процесі виробництва етилацетатного екстракту з листя шавлії лікарської складає 3 рази. Екстракти з листя шавлії лікарської виявляють антимікробну активність по відношенню до *S.aureus*, *B.subtilis*, *S.pyogenosa* та *E.coli*.

**Ключові слова:** шавлія лікарська, листя, оптимізація, етилацетатний екстракт.

### ВСТУП

Вітчизняною фармацевтичною промисловістю випускається протизапальний антимікробний рослинний препарат «Сальвін», який отримують екстракцією ацетоном з листя шавлії лікарської [1]. Як відомо, основними діючими речовинами препарату є дитерпени, терпеноїди та хлорофіли а та b. Але ацетон є прекурсором та легкозапальним розчинником, що ускладнює роботу з ним. Для вирішення цієї проблеми ми вирішили дослідити можливість заміни ацетону на етилацетат.

Раніше нами було проведено системне дослідження біологічно активних речовин (БАР) листя шавлії лікарської (*Salvia officinalis*) та спиртового екстракту на їх основі [2]. Продовжуючи ці дослідження, ми вирішили дослідити деякі параметри процесу отримання етилацетатного екстракту з листя шавлії лікарської, зокрема кратність екстракції.

Метою дослідження було встановити оптимальну кратність етилацетатної екстракції БАР з листя шавлії лікарської та дослідити антимікробну активність отриманих екстрактів для встановлення можливості заміни ацетону на етилацетат.

Відомо, що основними БАР екстракту з листя шавлії лікарської є хлорофіли а та b, фенольні сполуки: фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, моно-, сескві- та дитерпени, прості феноли. Тому критеріями оптимізації були обрані вміст сухого залишку ( $y_1$ ), гідроксикоричних кислот ( $y_2$ ), флавоноїдів ( $y_3$ ), суми фенольних сполук ( $y_4$ ) та суми хлорофілів а та b ( $y_5$ ). Враховувалось рівняння залежності визначених кількісних показників від кратності екстракції ( $t$ ).

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження було листя *Salvia officinalis*, придбане в аптеці (сер. 130409, ЗАТ «Ліктрави», м. Житомир), яке відповідало вимогам ДФ СРСР XI видання, та етилацетатні екстракти, отримані із цієї сировини [3].

Для проведення спиртової екстракції 30,0 г подрібненого шляхом вальцювання до розмірів часток 2,5-3,0 мм сухого листя шавлії лікарської заливали 150 мл етилацетату та настоювали при кімнатній температурі протягом 5 год. Піс-

ля цього екстракт зливали та до сировини повторно додавали 90 мл етилацетату. Екстракцію проводили 4 рази. З отриманих екстрактів проводили випарювання розчинника та готували 1% спиртові розчини. Для ідентифікації БАР у кожному екстракті використовували методи паперової (ПХ) та тонкошарової (ТШХ) хроматографії [4].

У відібраних пробах проводили визначення сухого залишку [4] та кількісного вмісту основних груп БАР, які були ідентифіковані в екстрактах. Кількісне визначення фенольних сполук, похідних гідроксикоричної кислоти, флавоноїдів та хлорофілів проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густина вимірювали в кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Spesol 1500 (Швейцарія) за відповідної довжини хвилі. Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали в 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 фенольних сполук – у перерахунку на галову кислоту при довжині хвилі 270 нм [6] та хлорофілів а та b при довжині хвилі 649 нм та 665 нм [5]. Для статистичної достовірності досліди проводили не менше 5 разів [5].

Для оптимізації екстрагування БАР і вибору оптимальної кратності процесу нами була розрахована рентабельність кожної стадії ( $m_{\text{екстракту}}/m_{\text{спирту}}$ ) по кожному з показників [7] і за допомогою пакета прикладних програм «Statistika» виведена залежність цих факторів від кратності екстракції та визначений оптимальний час екстракції.

Вивчення антибактеріальної активності екстрактів проводили методом дифузії в агар в Інституті мікробіології та імунології ім. І.І.Мечнікова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ під керівництвом к.біол.н. Т.П.Осолодченко [8]. Відповідно до рекомендацій ВООЗ, для оцінки активності препаратів використовували рефренс-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 використовували 1% спиртові розчини екстрактів.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У процесі екстракції було отримано чотири етилацетатних екстракти. Загальний вихід етилацетатного екстракту складає 6,17%. Вміст фенольних сполук (фенолоальдегідів, фенолкарбонів), гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин та хлорофілів а та b контролювали в кожному екстракті методами ПХ та ТШХ. Результати кількісного визначення основних груп БАР речовин наведені в табл. 1.

Враховуючи отримані результати, за допомогою пакета прикладних програм «Statistika» в інтервалі кратності екстракції від 1 до 4 разів нами були виведені рівняння залежності кратності екстракції (t) від рентабельності процесу екстракції визначених кількісних показників (y).

1. Сухий залишок ( $y_1$ ):

$$y_1 = -0,0009 \cdot t^2 + 0,0047 \cdot t + 0,0004.$$

Виведена функція досягає максимуму при t=2,61, тобто, враховуючи цей показник, раціональна кратність екстракції складає 3 рази.

2. Гідроксикоричні кислоти ( $y_2$ ):

$$y_2 = -0,000008 \cdot t^2 + 0,00005 \cdot t + 0,0000008.$$

Виведена функція досягає максимуму при t=3,13, тобто, враховуючи цей показник, раціональна кратність екстракції складає 3 рази.

3. Флавоноїди ( $y_3$ ):

$$y_3 = -0,00001 \cdot t^2 + 0,00006 \cdot t + 0,000003.$$

Виведена функція досягає екстремуму при t=3, тобто, враховуючи цей показник, раціональна кратність екстракції складає 3 рази.

4. Сума фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту ( $y_4$ ):

$$y_4 = -0,000006 \cdot t^2 + 0,00004 \cdot t + 0,000003.$$

ТАБЛИЦЯ 1

**Кількісний вміст основних груп БАР в етилацетатних екстрактах з листя шавлії лікарської**

Кратність	Сухий залишок, %	Кількісний вміст, %			
		Гідроксикоричні кислоти	Флавоноїди	Сума фенольних сполук	Хлорофіли а та b
1	1,25	0,0120	0,0140	0,0108	0,0030
2	0,89	0,0130	0,0125	0,0088	0,0032
3	0,3	0,0131	0,0054	0,0075	0,0011
4	0,24	0,0063	0,0027	0,0079	0,0024

ТАБЛИЦЯ 2  
Антимікробна активність екстрактів з листя шавлії лікарської

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту, мм			
	1	2	3	4
S.aureus 25923	17	20	17	22
S.aureus 6538	16	21	18	23
E.coli 25922	12	15	12	12
Proteus vulgaris 4636	ріст	ріст	ріст	ріст
B.subtilis 6633	17	19	16	17
P.aeruginosa 27853	ріст	ріст	ріст	ріст
Proteus vulgaris 4636	ріст	ріст	ріст	ріст
S.pyogenosa 2432	12	16	14	15
Candida albicans 885/653	ріст	ріст	ріст	ріст

Виведена функція досягає максимуму при  $t=3,33$ , тобто, враховуючи цей показник, раціональна кратність екстракції складає 3 рази.

5. Сума хлорофілів а та b:

$$y_3 = -0,000002 \cdot t^2 + 0,00001 \cdot t + 0,0000007.$$

Виведена функція досягає екстремуму при  $t=2,5$ , тобто, враховуючи цей показник, раціональна кратність екстракції складає 3 рази.

Враховуючи ці показники, можна зробити висновок, що оптимальна кратність етилацетатної екстракції з листя шавлії лікарської складає 3 рази, що потрібно враховувати в технологічному процесі виробництва цього екстракту.

Результати дослідження антимікробної активності екстрактів наведені в табл. 2.

З табл. 2 видно, що екстракти з листя шавлії лікарської виявляють антимікробну активність по відношенню до S.aureus, B.subtilis, S.pyogenosa та E.coli та майже зовсім не впливають на Proteus vulgaris, P.aeruginosa та Candida albicans.

## ВИСНОВКИ

При вивченні динаміки екстрагування суми фенольних сполук, гідроксикоричних кислот, флавоноїдів та хлорофілів з листя шавлії лікарської проведено математичну обробку отриманих даних та визначено ефективний параметр кратності екстракції. Встановлено, що оптимальна кратність етилацетатної екстракції біологічно активних речовин у процесі виробництва цього екстракту з листя шавлії лікарської складає 3 рази.

Екстракти з листя шавлії лікарської виявляють антимікробну активність по відношенню до S.aureus, B.subtilis, S.pyogenosa та E.coli.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2-х т., 14-е изд. — М.: Новая волна, 2000. — 608 с.
2. Перспективи створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської / О.М.Кошовий, Є.О.Передерій, О.П.Гудзенко, А.М.Ковальова, А.М.Комісаренко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2010. — Т.5. — №1. — С. 33-35.
3. Государственная фармакопея СССР: 11-е изд. / МЗ СССР. — М.: Медицина, 1989. — Т.2. — С. 257.
4. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. Доп. 2. — Х., 2008. — 620 с.
5. Туманов В.Н. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза / В.Н.Туманов, С.Л.Чирук. — Гродно: ГрГУ им. Я.Купалы, 2007. — 62 с.
6. Koshoviy O.M. A new herbal remedy with anabolic activity on the basis of hydrophilic compounds of Eucalyptus leaves / O.M.Koshoviy, V.S.Kyslichenko, V.V.Velma, Andrej M. Komisarenko // Herba Polonica. — Vol. 55. — №1. — Poznan, 2008. — P. 72-77.
7. Кафаров В.В. Методы кибернетики в химии и химической технологии / В.В.Кафаров. — М.: Химия, 1976. — 464 с.
8. 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, Т.П.Осолодченко, А.М.Ковалева, А.Н.Комиссаренко. Оптимизация процесса этилацетатной экстракции биологически активных веществ из листьев шалфея лекарственного. Харьков, Луганск, Украина.**

**Ключевые слова:** шалфей лекарственный, лист, оптимизация, этилацетатный экстракт.

Проведено изучение динамики этилацетатной экстракции суммы фенольных соединений, гидроксикоричных кислот, флавоноидов и хлорофиллов из листьев шалфея лекарственного. При изучении динамики экстрагирования суммы фенольных соединений, гидроксикоричных кислот, флавоноидов и хлорофиллов из листьев шалфея лекарственного проведена математическая обработка полученных данных и определен эффективный параметр продолжительности процесса экстракции. Установлено, что оптимальная кратность этилацетатной экстракции биологически активных веществ в процессе производства этилацетатного экстракта из листьев шалфея лекарственного составляет 3 раза. Экстракты из листьев шалфея лекарственного проявляют антимикробную активность по отношению к S.aureus, B.subtilis, S.pyogenosa та E.coli.

**O.N.Koshevoy, E.A.Perederiy, A.P.Gudzenko, T.P.Osolodchenko, A.M.Kovaleva, A.N.Komisarenko. Optimization of the ethylacetate extractions process of biological active substances from *Salvia officinalis* leaves. Kharkiv, Lugansk, Ukraine.**

**Key words:** *Salvia officinalis*, leaves, optimization, ethylacetate extract.

The study of dynamics of hydrocinamic acids, flavonoids, phenolic substances and chlorophyll ethylacetate extraction from *Salvia officinalis* leaves has been

carried out. During the study of extraction dynamics of hydrocinamic acids, flavonoids, phenolic substances and chlorophylls from *Salvia officinalis* leaves it was carried out mathematical processing got data and was determined efficient parameter spread of time extractions. It was installed that multiple extraction of biologically active substances in process of manufacturing of ethylacetate extract from *Salvia officinalis* leaves forms 3 times. The extract of *Salvia officinalis* leaves have antibacterial activity against *S.aureus*, *B.subtilis*, *S.pyogenosa* and *E.coli*.

Надійшла до редакції 16.05.2010 р.