УДК 615.454.1:582.951.4:615.262.1:547.944.3

**сравнительное Фитохимическое исследование дурмана индейского с целью разработки нового ранозаживляющего геля**

*Т.Е. КОЛИСНЫК, Г.Д. СЛИПЧЕНКО, канд. фарм. наук, доцент*

*Национальный фармацевтический университет, г. Харьков*

Проблема лечения ран, несмотря на множество предложенных методов и препаратов, остается актуальной. При выборе лекарственного препарата для местной терапии ран следует учитывать патогенез раневого процесса. В качестве решения данной проблемы нами предлагается разработка нового ранозаживляющего геля на основе дурмана индейского (*Datura innoxia Mill.*) как лекарственного средства, обеспечивающего отток экссудата, а также обладающего антимикробными, противовоспалительными и местноанестезирующими свойствами. На первом этапе исследований нами проведено фитохимическое изучение листьев и семян дурмана индейского в сравнении с официнальным растением Государственной Фармакопеи Украины – дурманом обыкновенным. Полученные результаты позволяют рекомендовать листья дурмана индейского в качестве сырья для создания ранозаживляющего геля.

**Ключевые слова:** дурман индейский, тропановые алкалоиды, ранозаживляющий гель

**COMPARATIVE PHYTOCHEMICAL STUDY of Datura Innoxia in order to develop a novel wound-healing GEL**

*T.E. Kolisnyk, G.D. Slipchenko, PhD in pharmacy, associate professor*

*National Pharmaceutical University of Ukraine, Kharkov, Ukraine*

The problem of treating wounds remains relevant, despite the great variety of the proposed methods and drugs. The pathogenesis of wound healing process should be taken into account for choosing a drug for topical treatment of wounds. In order to solve this problem we propose the development of a new wound-healing gel based on Datura innoxia as a drug providing the outflow of exudate, as well as having anti-microbial, anti-inflammatory and local anesthetic properties. At the first stage of the research we have carried out a phytochemical study of the leaves and seeds of Datura innoxia in comparison to officinal plant of the State Pharmacopoeia of Ukraine – Datura stramonium. The obtained results allow us to recommend the leaves of Datura innoxia as raw material to develop a wound-healing gel.

**Key words:** Datura innoxia, tropane alkaloids, wound-healing gel

Терапия ран и раневой инфекции занимает важное место в современной медицине. Согласно научным представлениям патогенез раневого процесса включает фазу экссудации, фазу пролиферации и фазу эпителизации, что необходимо учитывать при выборе препаратов для местного лечения ран. Так, лекарственные препараты, используемые в экссудативной фазе, должны обладать широким спектром антимикробного действия, осмотическими свойствами, чтобы поглощать раневой экссудат, а также проявлять противовоспалительное и обезболивающее действие. Перспективной лекарственной формой для лечения ран в фазе экссудации являются гели. По сравнению с мазями, гели обеспечивают интенсивный отток экссудата из глубины раны, имеют pH близкий к pH кожного покрова, быстро и равномерно распределяются по поверхности после нанесения [3, 4].

С целью местного лечения ран широко применяют антимикробные препараты, в частности антибиотики – тетрациклин, левомицетин, гентамицин и др. Их недостатком является ограничение применения из-за индивидуальной непереносимости, а также развитие устойчивой раневой микрофлоры. Одним из путей решения данной проблемы является использование антимикробных фитопрепаратов на основе календулы, прополиса, зверобоя и др. Для данных лекарственных средств характерно сочетание выраженного фармакологического действия с минимальным отрицательным воздействием на организм. К их недостаткам следует отнести отсутствие болеутоляющего действия. В связи с этим особый интерес вызывают растения рода дурман (*Datura L.*), обладающие антибактериальными, противогрибковыми, противовоспалительными, а также местноанестезирующими свойствами [5–9].

Поэтому целью нашей работы является разработка нового ранозаживляющего геля на основе дурмана индейского (*Datura innoxia Mill.*). Используя декомпозиционный подход, первым шагом исследований было предварительное фитохимическое изучение листьев и семян дурмана индейского в сравнении с сырьем дурмана обыкновенного − официнального растения Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

**Материалы и методы исследований**

Объектами исследований являлись листья и семена видов дурмана индейского и дурмана обыкновенного. Листья заготавливали в июле–августе, а семена – в течение сентября–октября 2012 г.

С помощью общеизвестных химических реакций и методик [1, 2] был проведен сравнительный качественный анализ групп биологически активных веществ (БАВ) листьев и семян дурманов индейского и обыкновенного.

Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) изучали фенольные соединения и алкалоиды исследуемого сырья.

Для определения фенольных соединений получали водно-спиртовые извлечения по следующей методике. 5,0 г измельченного растительного сырья заливали 50 мл 50 %-ного спирта и нагревали на кипящей водяной бане с обратным холодильником в течение 20 мин, после чего извлечение охлаждали и фильтровали. 5 мл фильтрата упаривали насухо, сухой остаток растворяли в 0,5 мл 96 % спирта. В качестве неподвижной фазы использовали пластину для ТСХ на алюминиевой фольге Silicagel 60 F254 с толщиной слоя силикагеля 0,20 мм и размерами 20х20 см производства фирмы «Merck». Хроматографирование проводили в системе растворителей *н*-бутанол – уксусная кислота – вода (4:1:2), в качестве веществ-«свидетелей» использовали фармакопейные стандартные образцы (ФСО) рутина и кверцетина. Полученную хроматограмму обрабатывали 10 % спиртовым раствором натрия гидроксида и анализировали в видимом и ультрафиолетовом (УФ) свете с длинами волн 254 и 366 нм.

Определение алкалоидов осуществляли на хроматографической пластинке на алюминиевой фольге Alugram Sil G с толщиной слоя силикагеля 0,20 мм и размерами 20х20 см производства фирмы «Macherey-Nagel» по методике, изложенной в статье Государственной Фармакопеи Украины «Дурмана листья» [2].

Количественное содержание суммы флавоноидов определяли методом спектрофотометрии окрашенных комплексов флавоноидов с алюминия хлоридом в пересчете на рутин [1]. Содержание суммы алкалоидов определяли методом обратной алкалиметрии по методике, изложенной в статье Государственной Фармакопеи Украины «Дурмана листья» [2] в пересчете на гиосциамин.

**Результаты и обсуждение**

В табл. 1 приведены результаты сравнительного анализа сырья дурманов индейского и обыкновенного.

Таблица 1

**Сравнительный качественный анализ сырья видов дурмана обыкновенного и индейского**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Классы БАВ | Реактивы | Лекарственное растительное сырье |
| листьяд. обыкно-венного | семенад. обыкно-венного | листьяд. индейского | семенад. индейского |
| Поли-сахариды | 96 % этанол | + | + | + | + |
| Кумарины | лактонная проба | + | + | + | + |
| Флавоноиды | цианидиновая реакция | + | + | + | + |
| раствор железа (III) хлорида | + | + | + | + |
| Дубильные вещества (конденси-рованные) | раствор железо аммонийных квасцов | + | − | + | − |
| Алкалоиды | реактив Драгендорфа | + | + | + | + |
| раствор кислоты пикриновой | + | + | + | + |

*Примечание: + - присутствие, − - отсутствие классов БАВ в исследуемом сырье.*

Качественный состав классов БАВ сырья исследуемых видов оказался практически идентичным. В листьях и семенах обоих видов дурмана установлено наличие полисахаридов, кумаринов, флавоноидов и алкалоидов; в листьях также обнаружены конденсированные дубильные вещества. На рис. 1 приведена схема ТСХ-хроматограммы фенольных соединений сырья изучаемых видов дурмана.



Рис. 1. Схема ТСХ-хроматограммы фенольных соединений сырья дурманов обыкновенного и индейского. Обозначения: A – рутин, B – кверцетин, C – семена дурмана обыкновенного, D – семена дурмана индейского, E – листья дурмана обыкновенного, F – листья дурмана индейского; 1−15 – обозначения хроматографических зон

На ТСХ-хроматограмме фенольных соединений для листьев дурманов обыкновенного и индейского наблюдали по 3 четкие зоны для каждого вида, для семян − 4 и 3 четкие зоны для дурмана обыкновенного и дурмана индейского соответственно. Окрашивание хроматографических зон в видимом и ультрафиолетовом свете после обработки 10 % спиртовым раствором натрия гидроксида не изменилось, а лишь приобрело более интенсивный характер.

Данные относительно рассчитанных величин коэффициента удержания (*Rf*) и окрашивания хроматографических зон в видимом и УФ-свете до и после обработки 10 % спиртовым раствором натрия гидроксида для полученной хроматограммы фенольных соединений представлены в табл. 2.

Таблица 2

**Величина *Rf* и окрашивание хроматографических зон для хроматограммы фенольных соединений**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Обозначение хроматографических зон на схеме | *Rf* | Окрашивание хроматографических зон |
| в видимом свете | в УФ-свете 254 нм | в УФ-свете 366 нм |
| 1 | 0,39 | желтое | темно-зеленое | отсутствует |
| 2 | 0,83 | -//-//- | -//-//- | -//-//- |
| 3 | 0,93 | светло-коричневое | -//-//- | сине-зеленая флуоресценция |
| 4 | 0,84 | -//-//- | -//-//- | -//-//- |
| 5 | 0,43 | -//-//- | голубая флуоресценция | ярко-синяя флуоресценция |
| 6 | 0,34 | светло-желтое | желтая флуоресценция | желто-зеленая флуоресценция |
| 7 | 0,91 | светло-коричневое | темно-зеленое | синяя флуоресценция |
| 8 | 0,82 | -//-//- | -//-//- | -//-//- |
| 9 | 0,53 | -//-//- | -//-//- | -//-//- |
| 10 | 0,92 | желто-зеленое | -//-//- | отсутствует |
| 11 | 0,84 | зелено-коричневое | -//-//- | -//-//- |
| 12 | 0,47 | светло-коричневое | -//-//- | -//-//- |
| 13 | 0,92 | желто-зеленое | -//-//- | -//-//- |
| 14 | 0,84 | зелено-коричневое | -//-//- | -//-//- |
| 15 | 0,46 | светло-коричневое | -//-//- | -//-//- |

По величине *Rf* и характеру хроматографического поведения в сравнении со стандартным веществом в листьях исследуемых видов идентифицирован кверцетин. По характерной флуоресценции в УФ-свете до и после обработки 10 % спиртовым раствором натрия гидроксида можно предположить, что хроматографические зоны 5, 6, 7 относятся к кумаринам и/или гидроксикоричным кислотам.

На рис. 2 приведена схема ТСХ-хроматограммы алкалоидов сырья исследуемых видов дурмана.



Рис. 2. Схема ТСХ-хроматограммы алкалоидов сырья дурманов обыкновенного и индейского. Обозначения: A – смесь ФСО гиосциамина сульфата и скополамина гидробромида, B – листья дурмана индейского, C – листья дурмана обыкновенного, D – семена дурмана индейского, E – семена дурмана обыкновенного; 1−9 – обозначения хроматографических зон

Данные относительно рассчитанных величин *Rf* и окрашивания хроматографических зон в видимом свете представлены в табл. 3.

Таблица 3

**Величина *Rf* и окрашивание хроматографических зон для ТСХ-хроматограммы алкалоидов**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Обозначение хроматографической зоны на схеме | *Rf* | Окрашивание хроматографических зон |
| после обработки раствором калия йодовисмутата  | после обработки раствором натрия нитрита |
| 1 | 0,76 | оранжевое | оранжевое |
| 2 | 0,26 | коричневое | красно-коричневое |
| 3 | 0,75 | оранжевое | оранжевое |
| 4 | 0,75 | оранжевое | оранжевое |
| 5 | 0,26 | коричневое | красно-коричневое |
| 6 | 0,76 | оранжевое | оранжевое |
| 7 | 0,26 | коричневое | красно-коричневое |
| 8 | 0,77 | оранжевое | оранжевое |
| 9 | 0,28 | коричневое | красно-коричневое |

По результатам проведенного хроматографического анализа на алкалоиды в сырье дурмана обыкновенного и семенах дурмана индейского идентифицированы гиосциамин и скополамин, в листьях дурмана индейского идентифицирован скополамин.

Наибольшее количественное содержание суммы флавоноидов установлено в листьях дурманов обыкновенного и индейского (3,87 ± 0,17 % и 3,20 ± 0,15 % соответственно), наименьшее – в семенах видов дурмана обыкновенного и индейского (1,15 ± 0,12 % и 1,03 ± 0,12 % соответственно) .

Наибольшее содержание суммы алкалоидов установлено в сырье дурмана индейского (0,59 ± 0,03 % и 0,41 ± 0,05 % соответственно для семян и листьев) и несколько меньше – в сырье дурмана обыкновенного (0,28 ± 0,03 % и 0,23 ± 0,02 % соответственно для листьев и семян).

Метрологические характеристики проведенных исследований количественного содержания БАВ в сырье изучаемых видов представлены в табл. 4.

Таблица 4

**Метрологические характеристики определения БАВ в сырье дурманов обычного и индейского**

|  |  |
| --- | --- |
| Растительное сырье | Параметры |
| *n* | *ν* | $$\overbar{x}$$ | *s* | $$s\_{\overbar{x}}$$ | *P* | *t(P,ν)* | $$∆\_{x}$$ | $$∆\_{\overbar{x}}$$ | $$\overbar{ε}$$ |
| *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* | *7* | *8* | *9* | *10* | *11* |
| Определение суммы флавоноидов |
| Листья дурмана обыкновенного | 5 | 4 | 3,87 | 0,19 | 0,09 | 0,95 | 2,13 | 0,39 | 0,17 | 4,37 |
| Семена дурмана обыкновенного | 5 | 4 | 1,15 | 0,13 | 0,06 | 0,95 | 2,13 | 0,26 | 0,12 | 10,05 |
| Листья дурмана индейского | 5 | 4 | 3,20 | 0,17 | 0,08 | 0,95 | 2,13 | 0,34 | 0,15 | 4,70 |
| Семена дурмана индейского | 5 | 4 | 1,03 | 0,14 | 0,06 | 0,95 | 2,13 | 0,27 | 0,12 | 11,93 |

Продолжение табл. 4

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| *1* | *2* | *3* | *4* | *5* | *6* | *7* | *8* | *9* | *10* | *11* |
| Определение суммы алкалоидов |
| Листья дурмана обыкновенного | 5 | 4 | 0,28 | 0,03 | 0,01 | 0,95 | 2,13 | 0,06 | 0,03 | 8,89 |
| Семена дурмана обыкновенного | 5 | 4 | 0,23 | 0,02 | 0,01 | 0,95 | 2,13 | 0,05 | 0,02 | 8,93 |
| Листья дурмана индейского | 5 | 4 | 0,41 | 0,06 | 0,03 | 0,95 | 2,13 | 0,12 | 0,05 | 12,80 |
| Семена дурмана индейского | 5 | 4 | 0,59 | 0,04 | 0,02 | 0,95 | 2,13 | 0,07 | 0,03 | 5,52 |

Таким образом, сравнительное фитохимическое изучение сырья видов дурмана обыкновенного и индейского выявило возможность использования сырья дурмана индейского с целью создания новых лекарственных препаратов на его основе.

**Выводы**

1. Проведено фитохимическое изучение листьев и семян дурмана индейского в сравнении с аналогичным сырьем официнального растения ГФУ – дурмана обыкновенного.

2. Качественное сравнение состава БАВ объектов исследования показало их подобность. С помощью методов ТСХ из фенольных соединений идентифицирован кверцетин в листьях исследуемых видов, из алкалоидов определены гиосциамин и скополамин в сырье дурмана обыкновенного и семенах дурмана индейского, а также в листьях дурмана индейского – скополамин.

3. По результатам количественного определения отдельных групп БАВ максимальное содержание суммы флавоноидов установлено для листьев дурманов обыкновенного и индейского и наименьшее – для семян обоих видов. Содержание суммы алкалоидов наибольшее для семян и листьев дурмана индейского, и меньшее – для сырья дурмана обыкновенного.

4. На основании проведенных исследований определено перспективное сырье для создания нового ранозаживляющего препарата в форме геля – листья дурмана индейского, ввиду высокого содержания БАВ, а также доступной сырьевой базы, что позволит создать эффективный и экономически целесообразный препарат на основе данного сырья.

**Список литературы**

1. Государственная фармакопея СССР XI издание. Вып. 1, 2. – М.: Медицина, 1987, 1990. – 335 с., 400 с.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид. – Доповнення 4. – Х.: Державне підприємство Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2011. – 540 с.
3. Лагвилава Т. О., Зиновьев Е. В., Ивахнюк Г. К. и др. Ранозаживляющие средства на основе карбополов // Известия СПбГТИ (ТУ). – 2013. – № 18 (44). – С. 47–52.
4. Привольнев В. В., Каракулина Е. В. Основные принципы местного лечения ран и раневой инфекции // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. – 2011. – Т. 13.– № 3. – С. 214–222.
5. *Abbas D. A.* Analgesiac, anti-inflammatory and antidiarrhoeal effects of *Datura stramonium* hydroalcoholic leaves extract in mice // [International Journal of Research and Reviews in Applied Sciences](http://www.arpapress.com/ijrras/Volumes.aspx). – 2013. – V. 14 (1). – P. 193−199.
6. *Al-Sarai A. A. H., Abbas D. A., Al-Rekabi F. M. K.* Some toxicological impacts and invitro antibacterial activity of *Datura innoxia* extract in rats // Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences. − 2011. − V. 2, N 1. − P. 132−145.
7. *Kumar A., Garg B. R., Rajput G. et al.* Antibacterial activity and quantitative determination of protein from leaf of *Datura stramonium* and *Piper betle* plants // Pharmacophore. – 2010. – V. 1 (3). – P. 184−195.
8. *Sakthi S. S.*, *Geetha M.*, *Saranraj P.* Pharmacological screening of *Datura metel* and *Acalypha indica* for its antifungal activity against pathogenic fungi // International journal of pharmaceutical science and health care. – 2011. – V. 2. − P. 15−30.
9. Shanmuga Priya K., Gnanamani A., Radhakrishnan N., Mary Babu // Healing potential of *Datura alba* on burn wounds in albino rats // Journal of Ethnopharmacology. – 2002. – V. 83. − P. 193−199.