

ДОСЛІДЖЕННЯ ІЗОПРЕНОЇДНОГО СКЛАДУ ТА АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ

О.М.Кошовий, Є.О.Передерій, Т.П.Осолодченко**, А.М.Ковальова, А.М.Комісаренко*

Національний фармацевтичний університет
Луганський державний медичний університет*
Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова**

Ключові слова: шавлія лікарська; густий екстракт; антимікробна активність; терпеноїди; хлорофіли

*Вміст ефірної олії у густому екстракті з листя шавлії лікарської складає 5,92%. У результаті досліджень компонентного складу терпеноїдів густого екстракту з листя шавлії лікарської виявлено 37 речовин, з них ідентифіковано 25. В екстракті спостерігається високий вміст таких компонентів, як 1,8-цинеол (8,14%), α -туйон (18,02%) та β -туйон (8,66%), камфора (15,51%), борнеол (4,61%) та епі-манол (9,56%). За допомогою методу ТШХ у густому екстракті листя шавлії лікарської були ідентифіковані хлорофіли **a** і **b** та встановлено їх кількісний вміст. У густому екстракті листя шавлії лікарської міститься $0,71 \pm 0,02\%$ хлорофілу **a**, $0,48 \pm 0,03\%$ хлорофілу **b**, а сума хлорофілів **a** і **b** склала $1,19 \pm 0,03\%$. Встановлено, що густий екстракт з листя шавлії лікарської в інтервалі концентрацій від 0,2 до 1,5% виявляє антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenosa* на рівні 1% спиртового розчину хлорофіліпту.*

Лікування інфекційних захворювань залишається актуальною проблемою медицини та фармації усього світу. За даними ВООЗ (WHO, 2008) смертність хворих унаслідок інфекційних хвороб займає друге місце у світі; окрім цього, більше мільйону 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 антибак-

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

Вітчизняна фармацевтична промисловість у різних лікарських формах випускає антистафілоковий рослинний препарат "Хлорофіліпт" [4, 5]. Як відомо, основними діючими речовинами препарату є хлорофіли *a*, *b* та терпеноїди, зокрема 1,8-цинеол. Що-

річно для його виробництва в Україні імпортується близько 25 тонн листя евкالیпту, що робить українські фармацевтичні заводи залежними від іноземних постачальників.

Для зменшення цієї залежності щодо цінеоловмісної рослинної сировини нами для дослідження було обрано листя шавлії лікарської. Крім того, ця рослина добре культивується в Україні. Виходячи з вищевикладеного, метою нашої роботи стало дослідження ізопреноїдного складу та антимікробної активності спиртового екстракту з листя шавлії лікарської та встановлення можливості створення нового антибактеріального засобу з цієї сировини.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження був густий спиртовий екстракт із листя шавлії лікарської, отриманий трикратною екстракцією 96% спиртом етиловим з сировини, при-

О.М.Кошовий — канд. фармац. наук, доцент кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Є.О.Передерій — канд. фармац. наук, доцент кафедри технології ліків, організації та економіки фармації Луганського державного медичного університету

Т.П.Осолодченко — канд. біол. наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова (м. Харків)

Таблиця 1

**Речовини, ідентифіковані у густому екстракті
з листя шавлії лікарської**

Речовина	Час утримання, хв	Вміст речовини, %
Камфен	6,35	0,89
*	6,71	0,22
Мірцен	7,46	0,19
Етилкапронат	7,71	0,21
α-Терпінен	8,19	0,23
л-Цимен	8,43	0,22
Лимонен	8,54	0,16
1,8-Цинеол	8,65	8,14
γ-Терпінен	9,46	0,19
Цис-ліналоол	10,43	0,17
Ліналоол	10,86	0,30
α-Туйон	11,03	18,02
β-Туйон	11,36	8,66
Камфора	12,27	15,51
Пінокамфон	12,76	0,16
Борнеол	12,99	4,61
Терпінен-4-ол	13,35	0,30
*	13,71	0,31
Міртенол	14,13	0,72
Борнілацетат	16,93	1,41
*	17,16	0,22
*	18,81	0,54
*	19,03	1,03
Каріофілен	21,19	2,57
*	21,82	0,33
Гумулен	22,25	2,57
*	26,03	0,54
Віридифлорол	26,28	4,95
*	26,41	0,18
Гумуленоксид	26,64	0,85
Аромадендренноксид	27,14	0,51
*	27,63	0,34
*	27,89	0,19
Пальмітинова кислота	31,81	0,67
Епі-маноол	32,92	9,56
*	33,22	0,50
*	33,63	0,30

Примітка. * — речовина не ідентифікована.

дбаной в аптеці (сер. 130409, ЗАТ “Ліктрави”, м. Житомир). Отриманий екстракт відповідав вимогам Державної фармакопеї Ук-

раїни та був віднесений до густих екстрактів [1].

Дослідження терпеноїдного складу екстракту проводили методом

газової хроматографії. Для цього 22,5 мг екстракту розчиняли в 1 мл спирту етилового. Проба, яку вводили для аналізу, становила 0,001 мл. Пробу аналізували за допомогою газового хроматографа (ГХ) Agilent Technology 6890 з мас-спектрометричним (МС) детектором 5973 при наступних параметрах: колонка кварцова, капілярна HP-5 довжиною 30 м, внутрішній діаметр — 0,25 мм, температура терmostату програмувалася від 50°C до 250°C зі швидкістю 4°C/хв, температура інжектора — 250°C, газ-носії — гелій, швидкість потоку — 1 мл/хв. Переніс від ГХ до МС прогрівався до 230°C. Температура джерела підтримувалася на рівні 200°C. Електронна іонізація проводилася при 70 eV у ранжуванні мас m/z 29 до 450. Ідентифікація речовин виконувалася на основі порівняння отриманих мас-спектрів з даними бібліотеки NIST05-WILEY (близько 500000 мас-спектрів).

Ідентифікацію хлорофілів у спиртовому екстракті з листя шавлії лікарської проводили за допомогою двовимірної ТШХ у системах гексан-ацетон (8:2) і гексан-ацетон (8:4) у порівнянні з достовірними зразками.

Кількісне визначення хлорофілів проводили спектрофотометричним методом [6]. Для цього 0,25 г екстракту (точна наважка) поміщали в колбу ємністю 25,0 мл, розчиняли 96% спиртом етиловим і доводили об'єм тим же розчинником до мітки. Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі Spectol 1500 (Швейцарія) при довжині хвилі 649 і 665 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння служив 96% спирт етиловий.

Концентрацію хлорофілів розраховували за формулами [6]:

$$C_{\text{хл.а}} = 13,70 \cdot A_{665} - 5,76 \cdot A_{649},$$

$$C_{\text{хл.б}} = 25,80 \cdot A_{649} - 7,60 \cdot A_{665},$$

$$C_{\text{хл.а} + \text{хл.б}} = 6,10 \cdot A_{665} + 20,04 \cdot A_{649},$$

де: A_{665} — оптична густина розчину при довжині хвилі 665 нм; A_{649} — оптична густина розчину при довжині хвилі 649 нм.

Антимікробна активність екстракту з листя шавлії лікарської

Мікроорганізм	Діаметр зони затримки росту, мм							
	1% р-н хлорофіліпту	1,5% р-н шавлії	1% р-н шавлії	0,75% р-н шавлії	0,5% р-н шавлії	0,35% р-н шавлії	0,3% р-н шавлії	0,2% р-н шавлії
<i>S. aureus</i> 25923	24	25	23	18	24	22	23	24
<i>S. aureus</i> 6538	23	27	26	19	24	25	11	25
<i>E. coli</i> 25922	12	12	ріст	ріст	11	12	ріст	ріст
<i>Proteus vulgaris</i> 4636	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
<i>B. subtilis</i> 6633	12	13	15	14	ріст	ріст	13	14
<i>P. aeruginosa</i> 27853	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
<i>P. aeruginosa</i> 9027	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
<i>S. pyogenosa</i> 2432	ріст	13	14	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
<i>Candida albicans</i> 885/653	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст

Вивчення антибактеріальної активності екстракту проводили методом дифузії в агар в Інституті мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ під керівництвом к. біол. н. Осолодченко Т.П. [2, 3]. 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.

Результати та їх обговорення

Вміст ефірної олії у густому екстракті шавлії лікарської розраховували за сумою усіх площ піків на хроматограмі, що склало 5,92%. Компонентний склад терпеноїдів густого екстракту з листя шавлії лікарської наведений в табл. 1.

У результаті досліджень у густому екстракті листя шавлії лікарської виявлено 37 речовин, з них ідентифіковано 25. В екстракті спостерігається високий вміст таких компонентів, як 1,8-цинеол (8,14%), α -туйон (18,02%) та β -

туйон (8,66%), камфора (15,51%), борнеол (4,61%) та епі-маноол (9,56%).

За допомогою методу ТШХ в густому екстракті листя шавлії лікарської були ідентифіковані хлорофіли *a* і *b*, які мали червону флуоресценцію в УФ-світлі, та встановлено їх кількісний вміст. Після статистичної обробки результатів встановлено, що в густому екстракті листя шавлії лікарської міститься $0,71 \pm 0,02\%$ хлорофілу *a*, $0,48 \pm 0,03\%$ хлорофілу *b*, а сума хлорофілів *a* і *b* склала $1,19 \pm 0,03\%$.

Хімічний склад густого екстракту з листя шавлії лікарської свідчить про те, що він повинен володіти широким спектром антимікробної активності. Для дослідження антимікробної активності використовували метод дифузії в агар. Густий екстракт розчиняли у спирті етиловому, готуючи розчини відповідної концентрації. Як препарат порівняння використовували 1% спиртовий розчин препарату "Хлорофіліпт" (сер. 331109, ТОВ "ДЗ "ГНЦЛС", м. Харків). 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 нарівні з 1% спиртовим розчином препарату хлорофіліпт та майже зовсім не впливає на *E. coli*, *Proteus vulgaris* та *P. aeruginosa*. В інтервалі концентрацій від 0,2 до 1,5% густий екстракт виявляє антимікробну активність на рівні препарату "Хлорофіліпт".

ВИСНОВКИ

1. Проведено дослідження ізопреноїдного складу густого екстракту з листя шавлії лікарської. В екстракті виявлено 37 речовин, з них ідентифіковано 25. Встановлено якісний склад та кількісний вміст хлорофілів та терпеноїдів в екстракті.

2. Встановлено, що густий екстракт з листя шавлії лікарської в інтервалі концентрацій від 0,2 до 1,5% виявляє антимікробну активність по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. pyogenosa* на рівні 1% спиртового розчину хлорофіліпту.

3. Отримані результати свідчать про можливість створення нового антибактеріального засобу з листя шавлії лікарської, що дозволить більш ефективно боротися з інфекціями, викликаними золотистим стафілококом, розширити номенклатуру вітчизняних лікарських засобів та зменшити залежність українських фармацевтичних заводів від імпортової сировини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / ДП “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Доп. 2. — Х.: ДП “Науково-експертний фармакопейний центр”, 2008. — 620 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Здоров'я, 2002. — С. 79-95, 292-306.
3. Кисличенко В.С., Дьяконова Я.В., Осолодченко Т.П., Кошовий О.М. //Клінічна фармація. — 2008. — Т. 12, №12. — С. 53-56.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т., 14 изд. — М.: Новая волна, 2000. — 608 с.
5. Пат. №5242 Україна, МПК А 61 К 35/78. Спосіб одержання хлорофіліпту / В.Л.Надтока, Н.Г.Божко, А.О.Гришко. — №2753048/SU. Заявл.: 25.04.79. Опубл.: 28.12.94. — Бюл. №7-1.
6. Туманов В.Н., Чирук С.Л. Качественные и количественные методы исследования пигментов фотосинтеза. — Гродно: ГрГУ им. Я.Купалы, 2007. — 62 с.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (572) 67-93-63.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 08.10.2010 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, діючою речовиною якого є **динопрост** (Засоби, які підвищують тонус і скоротливу активність міометрія. Простагландини. Код АТС G02A D01)

Вагітній О. (26 років) для підсилення пологової діяльності було призначено препарат, діючою речовиною якого є динопрост (внутрішньовенно крапельно 5 мг). Через 5 хвилин після початку введення у хворої з'явилася нудота, блювання, артеріальний тиск знизився до 90/60 мм рт. ст. Введення препарату, діючою речовиною якого є динопрост, було припинено. Для корекції стану жінки було введено хлористий кальцій. Після вжитих заходів зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Івано-Франківського регіонального відділення ДФЦ МОЗ України (Рожнятівська ЦРЛ).