

УДК 615.281:582.949.27:581.45

Г. В. Вовк, М. М. Мига, О. М. Кошовий, Ю. В. Верховодова, І. В. Кіреєв

Національний фармацевтичний університет

ФІТОХІМІЧНЕ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ДИСТИЛЯЦІЙНОЇ ВИТЯЖКИ З ЛИСТЯ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ

На ринку України зареєстровано більше 40 препаратів на основі біологічно активних речовин листя шавлії, до складу яких, в основному, входить ефірна олія. Відходами виробництва ефірної олії шавлії стають тонни водної дистиляційної витяжки, тому метою досліджень було вивчення хімічного складу та фармакологічної активності дистиляційної витяжки з листя шавлії лікарської. Сухий залишок у дистиляційній витяжці становив 2,49 %. У рідкому екстракті листя шавлії лікарської ідентифіковано 10 вільних та 11 зв'язаних амінокислот, з яких домінуючими є тирозин, серин, глутамінова та аспарагінова кислоти. Вміст вільних амінокислот складає 0,48 %, а вміст зв'язаних – 0,63 %. У рідкому екстракті методом ВЕРХ виявлено 12 речовин фенольної природи, з них 3 гідроксикоричні кислоти – кавова, розмаринова і хлорогенова; 6 флавоноїдів – апігенін, лютеолін, кверцетин, 3-метоксилютеолін, лютеолін-7-О-глюкозид і кверцетин-3-О-арабінозид. У результаті вивчення рідкого екстракту з листя шавлії лікарської встановили вміст гідроксикоричних кислот ($0,212 \pm 0,041$ %), флавоноїдів ($0,054 \pm 0,002$ %) та суми фенольних сполук ($1,204 \pm 0,031$ %). Рідкий екстракт шавлії лікарської проявляє виражену протизапальну активність.

Ключові слова: шавлія лікарська; листя; гідродистиляція; рідкий екстракт; хімічний склад; протизапальна активність

ВСТУП

На ринку України зареєстровано більше 40 препаратів, до складу яких входять біологічно активні речовини (БАР) листя шавлії [4]. До більшості з них, в основному, входить ефірна олія шавлії. Щорічно в Україні відходами виробництва ефірної олії шавлії стають тонни водної дистиляційної витяжки, яка містить значну кількість БАР.

У сучасних умовах обмеженості природних ресурсів перспективним напрямком розвитку фармацевтичної науки є створення нових лікарських препаратів шляхом комплексної переробки рослинної сировини. Такий підхід дозволяє забезпечити розширення номенклатури препаратів, раціонально використовувати природні ресурси, підвищити рентабельність виробництва і зменшити його негативний вплив на навколишнє середовище. Перспективним об'єктом для вивчення є листя шавлії лікарської, оскільки у фармацевтичній промисловості використовується в основному ефірна олія, тоді як рослина містить ще значну кількість фенольних сполук. Тому доцільно було дослідити хімічний склад і фармакологічну активність дистиляційної витяжки.

Метою наших досліджень було вивчення хімічного складу та фармакологічної активності дистиляційної витяжки з листя шавлії лікарської, отриманої при виробництві ефірної олії шавлії.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом нашого дослідження була дистиляційна витяжка з листя шавлії лікарської, одержана при виробництві ефірної олії.

Для одержання дистиляційної витяжки до 100,0 г листя шавлії лікарської додавали 1 л води очищеної та одержували ефірну олію методом гідродистиляції згідно з ДФУ [2]. Вихід ефірної олії становив 1,2 мл. Сухий залишок [2] у дистиляційній витяжці становив 2,49 %, тому згідно з ДФУ він був віднесений до рідких екстрактів.

Для встановлення якісного складу одержаного рідкого екстракту використовували загальноприйнятні методи досліджень – якісні реакції, паперову (ПХ) та тонкошарову хроматографію (ТШХ) [3, 5, 8]. Для більш ретельного вивчення БАР використовували метод газової (ГХ) та високоефективної рідинної (ВЕРХ) хроматографії.

Попереднє хроматографічне вивчення якісного складу амінокислот у рідкому екстракті листя шавлії лікарської проводили методом висхідної хрома-

тографії на хроматографічному папері «Filtrak № 4» у системі розчинників н-бутанол – кислота оцтова – вода (4 : 1 : 2) [9]. Для порівняння використовували стандартний набір амінокислот (ТУ 6-09-3147-83) у концентрації 0,1 %. Хроматограми обробляли 0,2 % розчином нінгідрину в ацетоні та висушували у сушильній шафі при температурі 60-80 °С. Амінокислоти ідентифікували порівнянням з вірогідними зразками значень R_f при паралельному хроматографуванні. Методом паперової хроматографії в екстракті було виявлено не менше 5 амінокислот.

Якісний склад та кількісний вміст вільних та зв'язаних амінокислот в екстракті з листя шавлії лікарської проводили за допомогою високоефективного рідинного хроматографа фірми Agilent Technologies (модель 1100), укомплектованого проточним вакуумним дегазатором G1379A, 4-х канальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A, діодноматричним детектором G1316A [7]. В результаті дослідження амінокислотного складу рідкого екстракту листя шавлії лікарської ідентифіковано 10 вільних та 11 зв'язаних амінокислот, шість з яких є незамінними – треонін, валін, ізолейцин, лейцин, фенілаланін і аргінін. В екстракті листя шавлії лікарської домінуючими речовинами є тирозин, серин, глутамінова та аспарагінова кислоти. Вміст вільних амінокислот складає 0,48 %, а вміст зв'язаних – 0,63 %.

Попередню ідентифікацію моноцукрів проводили за допомогою паперової хроматографії низхідним способом у системі н-бутанол – кислота оцтова – вода (4 : 1 : 2) з достовірними зразками нейтральних моноцукрів. Хроматограми проявляли розчином анілінфталату. В екстракті методом паперової хроматографії були ідентифіковані глюкоза та галактоза, а після гідролізу ще й арабіноза.

Аналіз цукрів проводили на хроматографі фірми Agilent Technologies (модель 1100), який був укомплектований проточним вакуумним дегазатором G1379A, 4-х канальним насосом градієнта низького тиску G13111A, автоматичним інжектором G1313A, термостатом колонок G13116A та рефрактометричним детектором G1362A. У результаті визначення якісного складу та кількісного вмісту цукрів у рідкому екстракті листя шавлії лікарської методом ВЕРХ було ідентифіковано 4 моноцукри: глюкоза, галактоза та рамноза, а після гідролізу ще й арабіноза. Вміст моноцукрів у рідкому екстракті листя шавлії лікарської складає 7,5 %, а після гідролізу збільшується до 12,5 %.

Речовини флавоноїдної природи досліджували методом ТШХ з достовірними зразками флавоноїдів у системі розчинників кислота оцтова льодяна – вода – етилацетат (20 : 20 : 60). Прояв хроматограм проводили розчином п-диметиламінобензальдегіду, після чого пластинку нагрівали при температурі 100-105 °С протягом 10 хв до прояву плям і перегля-

дали в денному світлі [6]. Було виявлено не менше 4 речовин флавоноїдної природи.

Для визначення гідроксикоричних кислот використовували метод двовимірної ПХ у системах: I – н-бутанол – оцтова кислота – вода (4 : 1 : 2) і II – 15 % оцтова кислота. Прояв хроматограм проводили парами аміаку і діазореактивом [6]. Було виявлено не менше 3 гідроксикоричних кислот.

Вивчення якісного складу та кількісного вмісту фенольних сполук у рідкому екстракті з листя шавлії проводили методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за допомогою хроматографа Agilent Technologies (модель 1100). Ідентифікацію фенольних сполук проводили за часом утримування стандартів гідроксикоричних кислот і флавоноїдів і їх спектральним характеристикам [1, 6]. У результаті вивчення фенольних сполук рідкого екстракту з листя шавлії лікарської методом ВЕРХ виявлено 12 речовин фенольної природи, з них 3 гідроксикоричні кислоти – кавова, розмаринова і хлорогенова; 6 флавоноїдів – апігенін, лютеолін, кверцетин, 3-метоксилютеолін, лютеолін-7-О-глюкозид і кверцетин-3-О-арабінозид; 3 речовини ідентифікувати не вдалося.

Кількісне визначення фенольних сполук, похідних гідроксикоричної кислоти та флавоноїдів також проводили спектрофотометричним методом. Оптичну густину вимірювали на спектрофотометрі Specol 1500 (Швейцарія) за відповідної довжини хвилі. Вміст похідних гідроксикоричних кислот визначали в перерахунку на хлорогенову кислоту при 327 нм, вміст суми флавоноїдів у перерахунку на рутин – при довжині хвилі 417 нм після утворення комплексу з алюмінієм хлоридом, вміст суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту – при 270 нм. Для статистичної достовірності досліди проводили не менше п'яти разів [2].

У результаті вивчення фенольного складу рідкого екстракту з листя шавлії лікарської встановили вміст гідроксикоричних кислот ($0,212 \pm 0,041$ %), флавоноїдів ($0,054 \pm 0,002$ %) та суми фенольних сполук ($1,204 \pm 0,031$ %).

Протизапальну активність рідкого екстракту з листя шавлії лікарської вивчали на щурах на моделі гострого запального набряку, викликаного субплантарним введенням у задню лапку щура 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Рідкий екстракт вводили у дозі 2 мл. Дослідження виконано на безпородних білих щурах масою 200-250 г по 7 тварин у дослідних і по 5 у контрольній та порівняльній групах. Ступінь пригнічення набряку (протизапальну активність) порівнювали з початковим об'ємом лапки, з контрольною групою та групою порівняння – диклофенак. Через 4 години після введення рідкого екстракту набряк у середньому зменшується на 92,54 % в порівнянні з контролем, що порівняно з диклофенаком у дозі 8 мг/кг, який становить 93,3 %. Тобто рідкий екстракт шавлії лікарської у досліджуваній дозі проявляє виражену протизапальну активність.

ВИСНОВКИ

Вивчено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук, амінокислот та моноцукрів у рідкому екстракті з листя шавлії лікарської, одержаного шляхом комплексної переробки після одержання ефірної олії. Оскільки екстракт містить значну кількість фенольних сполук, то є перспективним об'єктом для створення нового лікарського засобу з проти-запальною активністю.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ**ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Бородин Н. В. Сравнительный анализ фенольных соединений побегов *Salix caprea* L., *Salix purpurea* L., *Salix viminalis* L. флоры Украины / Н. В. Бородин, В. Н. Ковалев // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: Сб. матер. IX Междунар. симпозиума (труды), 20-25 апр. 2015 г. – М.: ИФР РАН, 2015. – С. 27-33.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
3. Ковальова А. М. Розробка метода стандартизації нового лікарського засобу піфламін / [А. М. Ковальова, Г. В. Георгієвський, В. М. Ковальов та ін.] // Фармаком. – 2002. – № 2. – С. 92-97.
4. Компендиум 2014 – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко. – К.: МОРИОН, 2014. – 2700 с.
5. Кошовий О. М. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпту / [О. М. Кошовий, А. М. Комісаренко, А. М. Ковальова та ін.] // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 151-161.
6. Кошевой О. Н. Исследование химического состава и фармакологической активности экстрактов, полученных при комплексной переработке листьев шалфея лекарственного / О. Н. Кошевой, Г. В. Вовк, Э. Ю. Ахмедов, А. Н. Комиссаренко // Азербайджанский фармац. и фармакотерапевтический журн. – 2015. – № 1. – С. 30-34.
7. Jámboř A. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride / A. Jámboř, I. Molnár-Perl // J. of Chromatography A. – 2009. – Vol. 1216. – P. 6218-6223.
8. Kovaleva A. M. Phenolic compounds from *Potentilla anserina* / A. M. Kovaleva, E. R. Abdulkafarova // Chemistry of Natural Compounds. – 2011. – Vol. 47, Issue 3. – P. 446-447.
9. Ochkur O. Amino acids and monosaccharides composition of white dead-nettle (*Lamium album* L.) herb extract / O. Ochkur, A. Kovaleva, O. Goncharov, A. Komisarenko // The Pharma Innovation J. – 2015. – Vol. 4, № 3. – P. 43-44.

УДК 615.281:582.949.27:581.45**Г. В. Вовк, М. М. Мыга, О.Н. Кошевой, Ю. В. Верховодова, И. В. Киреев****ФИТОХИМИЧЕСКОЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДИСТИЛЛЯЦИОННОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО**

На рынке Украины зарегистрировано более 40 препаратов на основе биологически активных веществ листьев шалфея, в состав которых, в основном, входит эфирное масло. Отходами производства эфирного масла шалфея становятся тонны водного дистилляционного извлечения, поэтому целью исследований было изучение химического состава и фармакологической активности дистилляционного извлечения из листьев шалфея лекарственного. Сухой остаток в дистилляционном извлечении составил 2,49 %. В жидком экстракте листьев шалфея лекарственного идентифицировано 10 свободных и 11 связанных аминокислот, из которых доминирующими являются тирозин, серин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты. Содержание свободных аминокислот составляет 0,48 %, а содержание связанных – 0,63 %. В жидком экстракте методом ВЭЖХ выявлено 12 веществ фенольной природы, из них 3 гидроксикоричные кислоты – кофейная, розмариновая и хлорогеновая; 6 флавоноидов – апигенин, лутеолин, кверцетин, 3-метоксилутеолин, лутеолин-7-О-гликозид и кверцетин-3-О-арабинозид. В результате изучения жидкого экстракта из листьев шалфея лекарственного установили содержание гидроксикоричных кислот ($0,212 \pm 0,041$ %), флавоноидов ($0,054 \pm 0,002$ %) и суммы фенольных соединений ($1,204 \pm 0,031$ %). Жидкий экстракт шалфея проявляет выраженную противовоспалительную активность.

Ключевые слова: шалфей; листья; гидродистилляция; жидкий экстракт; химический состав; противовоспалительная активность

UDC 615.281:582.949.27:581.45**G. V. Vovk, M. M. Myga, O. M. Koshovyi, Yu. V. Verkhovodova, I. V. Kireev****PHYTOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL STUDY OF THE DISTILLATION EXTRACT FROM SALVIA OFFICINALIS LEAVES**

On the Ukrainian market there are more than 40 medicines, which contain biological active substances of sage leaves. They essentially includes an essential oil. Wastes from the production of sage essential oil are tons of water distillation extract, so the purpose of the research was to investigate a chemical composition and pharmacological activity of the distillation extract from *Salvia officinalis* leaves. The dry residue in the distillation extract was 2.49 %. The liquid extract of sage leaves contains 10 free and 11 linked amino acids. The dominant ones are tyrosine, serine, glutamic and aspartic acid. Free amino acid assay are 0.48 % and the related – 0.63 %. The liquid extract by HPLC revealed 12 phenolic substances, including 3 hydroxycinnamic acids – coffee, rosemarinic and chlorogenic; 6 flavonoids – apigenin, luteolin, quercetin, 3-metoksiluteolin, luteolin-7-O-glycoside and quercetin-3-O-arabinoside. The study of the *Salvia officinalis* leaves liquid extract established assay of hydroxycinnamic acids (0.212 ± 0.041 %), flavonoids (0.054 ± 0.002 %) and phenolic compounds (1.204 ± 0.031 %). The sage liquid extract pronounced anti-inflammatory activity.

Key words: *Salvia officinalis*; leaves; distillation; liquid extract; chemical composition; anti-inflammatory activity

Адреса для листування:

61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.
E-mail: gnosy@nuph.edu.ua. Тел. 0572-67-92-08.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 16.12.2015 р.