

ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕНОЛЬНИХ СПЛУК СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ ЕВКАЛІПТА, ОДЕРЖАНОГО ШЛЯХОМ КОМПЛЕКСНОЇ ПЕРЕРОБКИ

©Ю. Н. Авідзба, О. М. Кошовий, А. М. Комісаренко

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: вивчено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук сухого гідрофільного екстракту з листя евкаліпта, одержаного зі шроту після виробництва настойки. Встановлено, що екстракт містить гідроксикоричні кислоти, флавоноїди, значну кількість дубильних речовин, що гідролізуються, та має антимікробну активність щодо *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, *C.albicans*, *C. d. gravis* та *C. d. mitis* та виражену протизапальну дію.

Ключові слова. *Eucalyptus viminalis* Labill., листя, гідрофільний екстракт, фенольні сполуки, антимікробна, протизапальна активність.

Вступ. У сучасних умовах обмеження природних ресурсів перспективним напрямком розвитку фармацевтичної науки є створення нових лікарських препаратів шляхом комплексної переробки різної рослинної сировини. Такий підхід дозволяє забезпечити розширення номенклатури вітчизняних препаратів, раціонально використовувати природні ресурси, підвищити рентабельність виробництва та зменшити його негативний вплив на навколишнє середовище. Перспективним об'єктом для вивчення є листя евкаліпта, оскільки фармацевтичною промисловістю використовують, в основному, ізопреноїдні речовини – терпени, похідні порфіринів тощо, тоді як рослина містить ще значну кількість фенольних сполук.

Щорічно відходами виробництва настойки евкаліпта стають близько 75 тонн шроту листя евкаліпта, який містить значну кількість БАП, зокрема фенольні. Тому доцільно було отримати зі шроту водний екстракт, дослідити його хімічний склад, антимікробну та протизапальну активність.

Отже, метою наших досліджень було вивчити фенольний склад сухого екстракту з листя евкаліпта, одержаного шляхом комплексної переробки, його антимікробну та протизапальну активність.

Методи дослідження. Об'єктом нашого дослідження був сухий екстракт з листя евкаліпта (*Folia E. viminalis* Labill.), одержаний шляхом комплексної переробки після одержання настойки.

Для одержання сухого екстракту 5,0 кг шроту листя евкаліпта після одержання настойки вміщували в колбу зі шліфом, доливали 15,0 л води і проводили екстракцію на киплячому водянному нагрівнику протягом 10 годин. Екстракцію проводили тричі. Одержані витяги об'єднували, упарювали при температурі 85 – 95 °С під

вакуумом у вакуум-циркуляційному апараті при розрідженні 680-700 мм рт. ст. до об'єму водного залишку 2,0 л. Кубовий залишок – густа прозора темно-коричнева рідина, яку залишають для відстоювання на 4-5 діб у холодильнику. Одержаний водний концентрат сушать у розпилювальній сушильні з температурою теплоносія на вході 160 °С і на виході – 80 – 90 °С до сухого екстракту. В експериментах вивчали чотири серії екстрактів.

Для встановлення якісного складу екстрактів використовували загальноприйняті методи досліджень – якісні реакції, паперову (ПХ) та тонкошарову хроматографію (ТШХ) [1, 2].

Гідроксикоричні кислоти та флавоноїди вивчали методом двовимірної ПХ порівняно з вірогідними зразками гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у системах н-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2) та 5 % оцтова кислота з наступною обробкою хроматограм парами аміаку.

Для виявлення кумаринів екстракти хроматографували (ПХ) в системах хлороформ (формамід 25 %) та гексан (формамід 25 %) з наступним переглядом хроматограм у фільтрованому УФ-світлі до та після обробки 10 % спиртовим розчином калію гідроксиду.

У результаті хроматографічного вивчення водного екстракту та продукту його гідролізу (5 % сірчана кислота) за допомогою ПХ в системах: I – н-бутанол – оцтова кислота – вода (4:1:2), II – 5%, III – 30 % та IV – 60 % оцтова кислота з використанням 1% спиртового розчину заліза хлориду (IV) як хромогенного реактиву, встановили наявність галової, елагової кислот, гало- та елаготанінів.

Кількісне визначення БАП проводили спектрофотометричним методом. Похідні гідроксикоричної кислоти в перерахунку на хлорогенову кислоту визначали при довжині хвилі 327 нм;

флавоноїди в перерахунку на рутин після утворення комплексу з алюмінію хлоридом – при 417 нм; поліфенольні сполуки в перерахунку на галову кислоту – при довжині хвилі 270 нм. Оптичну густину вимірювали у кюветі з товщиною шару 10 мм на спектрофотометрі Specol 1500 (Швейцарія). Для статистичної достовірності результатів визначення проводили не менше 5 разів [1, 2].

Вивчення антибактеріальної активності екстрактів проводили методом послідовних розведень у рідкому живильному середовищі в Інституті мікробіології та імунології імені І. І. Мечнікова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ під керівництвом канд. біол. наук Т. П. Осолодченко [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, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 885/653 ATCC. Крім цього, вивчення проводили на музейних штаммах: *Salmonella typhimurium* 144, *Salmonella paratyphi A*-290, *Shigella flexneri* 170, *Corynebacterium diphtheriae* gravis 14 tox+, *C. d. mitis* 6 tox+. Використовували поживний бульйон для культивування мікроорганізмів, виробництва НПО "Живильні середовища" МОЗ Російської Федерації з додаванням глюкози в розрахунку 3 мл на 100 мл бульйону. У досліді використовували 13 стандартних штамів мікроорганізмів і 8 штамів клінічних, отриманих від хворих із запальними захворюваннями (табл. 1).

Таблиця 1. Дослідження антибактеріальної активності екстракту зі шроту листя евкаліпта методом серійних розведень у рідкому живильному середовищі

Мікроорганізми	МГК екстракту евкаліпта, млг/мл
<i>S. aureus</i> 25923 ATCC	25-35
<i>S. aureus</i> 6538 ATCC	25-35
<i>E. coli</i> 25922 ATCC	35-45
<i>P. vulgaris</i> 4636 NCTC	45-50
<i>P. aeruginosa</i> 27853 ATCC	50-55
<i>P. aeruginosa</i> 9027 ATCC	50-60
<i>B. subtilis</i> 6633 ATCC	25-35
<i>C. albicans</i> 885/653 ATCC	45-65
<i>S. typhimurium</i> 144	45-50
<i>S. paratyphi A</i> 290	45-50
<i>S. flexneri</i> 170	45-50
<i>C. d. gravis</i> 14 tox+	45-50
<i>C. d. mitis</i> 6 tox +	35-45
<i>S. aureus</i> (ангіна)	50-70
<i>S. aureus</i> (бронхіт)	50-70
<i>Streptococcus pyogenes</i> (бронхіт)	45-55
<i>E. coli</i> (гнійна рана)	60-80
<i>P. aeruginosa</i> (гнійна рана)	60-80
<i>P. aeruginosa</i> (опік)	100-150
<i>Candida albicans</i> (вагініт)	45-60
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (запалення легень)	100-120

Протизапальну активність досліджували у дослідах на білих мишах масою 17 – 22 г на моделі формалінового набряку [3]. Препаратом порівняння обрали вольтарен. Дослідні тварини поділили на три групи: контрольна, група, яку лікували екстрактом евкаліпта, та група, яку лікували препаратом порівняння.

Ступінь протизапальної активності екстракту оцінювали за антиексудативним ефектом. Для відтворення гострого асептичного ексудативного запалення використовували як флоген 2 % розчин формаліну, який вводили субплантарно в кількості 0,05 мл через 1 годину після перо-

рального введення досліджуваного екстракту евкаліпта, препарату порівняння вольтарену і у контрольній групі – води. Активність досліджуваних засобів вивчали за їх здатністю зменшувати розвиток набряку порівняно з контролем.

Результати й обговорення. У результаті попереднього хімічного та хроматографічного дослідження отриманих екстрактів встановлено наявність таких груп БАП, як похідні гідроксикоричної кислоти, флавоноїди та поліфенольні сполуки, амінокислоти та цукри.

В сухому екстракті з листя *Eucalyptus viminalis* Labill. виявлено: 2 фенолкарбонові кислоти –

галову та елагову; 5 похідних гідроксикоричної кислоти – *p*-кумарову, кавову, ферулову, хлорогенову та неохлорогенову; 6 кумаринів – кумарин, умбеліферон, скополетин, дафноретин, скимін і скополін; 8 флавоноїдів та їх глікозидів – лутеолін, мірицетин, кверцетин, кемпферол, ізорамнетин, ізокверцитрин, астрагалін і ізорамнетин-3-О-β-D-глюкопіранозид.

У результаті вивчення фенольного складу сухого екстракту з листя евкаліпта встановили вміст гідроксикоричних кислот ($1,91 \pm 0,05$ %), флавоноїдів ($1,41 \pm 0,07$ %) та поліфенольних сполук ($12,81 \pm 0,03$ %).

Отримані на моделі формалінового набряку у мишей результати свідчать про виражену проти-запальну активність сухого екстракту з шроту листя евкаліпта, отриманого шляхом комплексної пе-

реробки. Максимальний антиексудативний ефект екстракту $57,23$ % спостерігався у дозі 20 мг/кг.

Екстракт зі шроту листя евкаліпта виявляє антибактеріальну дію щодо різних таксономічних груп мікроорганізмів.

Проведенні фармакологічні дослідження вказали на перспективність використання екстракту з листя евкаліпта, отриманого шляхом комплексної переробки як антибактеріального та протизапального засобу.

Висновки. Вивчено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук в сухому екстракті з листя евкаліпта, одержаного шляхом комплексної переробки, досліджено його анти-мікробну та протизапальну активність, що свідчить про перспективність використання його для створення нових лікарських засобів.

Література

1. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта / О. М. Кошовий, А. М. Комісаренко, А. М. Ковальова [та ін.] // Фармаком. – 2005. – № 2/3. – С. 151 – 161.
2. Розробка методу стандартизації нового лікарського засобу піфламін / А. М. Ковальова, Г. В. Георгієвсь-

кий, В. М. Ковальов [та ін.] // Фармаком. – 2002. – № 2. – С. 92-97.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод рекомендацій / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Здоров'я, 2001. – С. 292-306.

ИССЛЕДОВАНИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ЭВКАЛИПТА, ПОЛУЧЕННОГО ПУТЕМ КОМПЛЕКСНОЙ ПЕРЕРАБОТКИ

Ю. Н. Авидзба, А. Н. Кошевой, А. Н. Комиссаренко

Национальный фармацевтический университет, Харьков

Резюме: изучены качественный состав и количественное содержание фенольных соединений сухого гидрофильного экстракта из листьев эвкалипта, полученного из шрота после производства настойки. Установлено, что экстракт содержит гидроксикоричные кислоты, флавоноиды, значительное количество гидролизующих дубильных веществ и обладает антимикробной активностью в отношении *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *C. d. gravis* и *C. d. mitis*, а также выраженное противовоспалительное действие.

Ключевые слова: *Eucalyptus viminalis* Labill., листья, гидрофильный экстракт, фенольные соединения, антимикробная, противовоспалительная активность.

RESEARCH OF PHENOLIC COMPOUNDS OF DRY EXTRACT FROM EUCALYPTUS LEAVES OBTAINED BY COMPLEX PROCESSING

Yu. N. Avidzba, O. M. Koshovyi, A. M. Komisarenko

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary: the qualitative and quantitative analysis of phenolic compounds of dry hydrophilic extract from eucalyptus leaves obtained from waste product after getting tincture were studied. It was established that the extract contains hydroxycinnamic acids, flavonoids, a significant amount of tannins and has antimicrobial activity against *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *C. d. gravis* and *C. d. mitis* and pronounced anti-inflammatory effect.

Key words: *Eucalyptus viminalis* Labill., leaves, hydrophilic extract, phenolic compounds, antimicrobial, anti-inflammatory activity.