

# ПОЛУЧЕНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО, ОПТИМИЗИРОВАННЫХ ПО СОДЕРЖАНИЮ ДИТЕРПЕНОВЫХ КИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

© Авторы, 2013

## Р.Ш. Хазиев

к.б.н., доцент, кафедра фармакологии, фармацевтический факультет с курсами фармакогнозии и ботаники, Казанский государственный медицинский университет  
E-mail: haziev@inbox.ru

## А.С. Макарова

студентка, фармацевтический факультет, Казанский государственный медицинский университет  
E-mail: anela\_90@mail.ru

## Л.Т. Мусина

д.м.н., профессор, кафедра микробиологии, Казанский государственного медицинского университета  
E-mail: musina@kgmu.kcn.ru

Получены спиртовые и водные извлечения из листьев шалфея с высоким содержанием дитерпеновых кислот. Установлена корреляция между их концентрацией и уровнем антибактериальной активности полученных извлечений.

**Ключевые слова:** шалфей лекарственный, дитерпеновые кислоты, антимикробная активность.

In our study were received ethanolic and aqueous sage leaves extracts with the high content of diterpenic acids and were studied a correlation between the concentration of diterpenic acids and the level of antibacterial activity.

**Keywords:** sage, diterpenic acids, antimicrobial activity.

Листья шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L., сем. *Lamiaceae*) – одно из наиболее популярных растительных средств антимикробного и противовоспалительного действия. В настоящее время в отечественной медицине шалфей используется практически только в виде настоя. Зарегистрированные препараты «сальвина раствор спиртовой 1 %» и «сальвин-ВИФ» на рынке отсутствуют.

Долгое время активным началом листьев шалфея считалось эфирное масло, по содержанию которого они стандартизируются согласно Государственной фармакопее СССР XI издания [1]. Исследования последнего времени связывают противовоспалительную и антимикробную активность шалфея лекарственного с содержанием дитерпеновых кислот (карнозоловой и её производных) [3]. По содержанию этих соединений предлагается стандартизовать сырье шалфея лекарственного [4].

Цель исследования – разработка способов получения спиртовых и водных извлечений из листьев шалфея лекарственного с максимальным выходом дитерпеновых кислот и оценка их антимикробных свойств для установления прямой корреляционной взаимосвязи между содержанием дитерпеновых кислот в полученных извлечениях и их антибактериальной активностью.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследований использовали шалфей лекарственного листа в фильтр-пакетах производства ЗАО «Ст-Медифарм», приобретенные в розничной аптечной сети. Содержание дитерпеновых кислот в сырье определяли методом прямой спектрофотометрии [4]. Содержание дитерпеновых кислот в сырье составило  $6,38 \pm 0,69$  % в пересчете на абсолютно сухое сырье. Для определения дитерпеновых кислот в спиртовых извлечениях использовали методику, приведенную в [4], упаривая этиловый спирт под вакуумом досуха. Для определения дитерпеновых кислот в водных извлечениях подкисляли их 1 %-ным раствором хлористоводородной кислоты до кислой реакции и исчерпывающе экстрагировали в делительной воронке хлороформом. Хлороформ отгоняли под вакуумом досуха и дальше определение проводили по методу, приведенному в [4]. Полноту очистки фракций дитерпеновых кислот подтверждали снятием УФ-спектров, которые имели отчетливый максимум поглощения при  $285 \pm 3$  нм и совпадали со УФ-спектром карнозоловой кислоты [4].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Спиртовые экстракты из листьев шалфея готовили из 10,0 г сырья методом повторной экстракции.

нагреванием на водяной бане с обратным холодильником в течение 30 мин. Экстрагирование проводилось 100 и 50 мл 95 %-ного спирта в первой и второй экстракции соответственно (общее соотношение сырья и экстрагента 1:15). С учетом того, что дитерпеновые кислоты могут находиться в сырье в форме солей, хуже растворяющихся в органических растворителях, применили также предварительное смачивание сырья 1 %-ным раствором кислоты хлористоводородной. Полученные результаты приведены в табл. 1.

Таким образом, используя предварительное смачивание сырья кислотой, удалось за две экстракции извлечь почти 90 % всех дитерпеновых кислот.

Для приготовления водных извлечений из листьев шалфея использовали технологию Государственной фармакопеи [2]: настаивание на кипящей водяной бане в течение 15 мин и последующее охлаждение при комнатной температуре не менее 45 мин. Соотношение сырья и воды изменяли от предлагаемого фармакопеей 1:10 до рекомендуемого производителями сырья 1:33 (два фильтр-пакета по 1,5 г на 100 мл воды). По аналогии со спиртовыми извлечениями из листьев шалфея, для перевода дитерпеновых кислот в водорастворимые солевые формы применили также экстракцию 1 %-ным раствором натрия гидрокарбоната. Полученные результаты приведены в табл. 2.

Таким образом, применяя экстракцию 1 %-ным раствором натрия гидрокарбоната, удалось повысить степень извлечения дитерпеновых кислот в настои в три и более раза при разных соотношениях сырья и экстрагента.

Была изучена микробиологическая активность полученных спиртовых экстрактов и настоев листьев шалфея методом двухкратных серийных разведений в мясо-пептонном бульоне (МПБ) (рН 7,0) с тест-микробом *Staphylococcus aureus* АТТС 6538-Р [5]. Однако метод серийных разведений в МПБ не позволил визуально определить наличие или отсутствие роста из-за мутности первоначального раствора.

Чтобы устранить этот недостаток фармакопейной методики нами был разработан метод, где антибактериальную активность извлечений определяли, используя мясо-пептонный агар (МПА), на поверхность которого в чашках Петри методом репликаций из каждой пробирки делали пересев и инкубировали в термостате в течение 18...24 ч.

Разведение извлечения, на котором отсутствовал рост тест-штамма характеризовало его антибактериальную активность (табл. 3).

Полученные результаты показали, что антимикробная активность спиртовых и водных извлечений листьев шалфея являются сопоставимыми и прямо коррелируют с уровнем содержания в них суммы дитерпеновых кислот. Для получения на-

Таблица 1. Содержание дитерпеновых кислот в спиртовых извлечениях из листьев шалфея, %

Экстрагент	Степень экстракции			Количество извлеченных дитерпеновых кислот (% от массы сырья)	Концентрация дитерпеновых кислот в извлечениях
	Первая	Повторная	Суммарная		
Спирт этиловый 95 %-ный	33,5±2,23	20,45±2,63	53,96 ± 3,6	3,4 ± 0,22	0,23 ± 0,02
Спирт этиловый 95 %-ный *	59,56±4,36	26,53±3,23	86,23±5,84	5,55 ± 0,73	0,37 ± 1,52

Примечание: \* – сырье смочено 1 %-ным раствором хлористоводородной кислоты.

Таблица 2. Содержание дитерпеновых кислот в водных извлечениях из листьев шалфея, %.

Экстрагент	Гидромодуль	Степень экстракции	Количество извлеченных дитерпеновых кислот (% от массы сырья)	Концентрация дитерпеновых кислот в извлечениях
Вода очищенная	1:10	9,72 ± 1,15	0,62 ± 0,09	0,06 ± 0,009
1 %-ный раствор NaHCO <sub>3</sub>	1:10	33,49 ± 2,29	2,15 ± 0,15	0,21 ± 0,02
Вода очищенная	1:20	19,97 ± 1,43	1,25 ± 0,10	0,06 ± 0,004
1 %-ный раствор NaHCO <sub>3</sub>	1:20	69,23 ± 5,47	4,34 ± 0,32	0,22 ± 0,01
Вода очищенная	1:33	24,24 ± 2,22	1,55 ± 0,23	0,05 ± 0,004
1 %-ный раствор NaHCO <sub>3</sub>	1:33	75,39 ± 8,80	4,82 ± 0,59	0,14 ± 0,02

Таблица 3. Антимикробная активность извлечений из листьев шалфея (на культуре *Staphylococcus aureus* ATTC 6538-P)

Извлечение	Концентрация дитерпеновых кислот в извлечениях, %	Максимальное разбавление извлечения, иннактивирующее размножение стафилококков	Минимальная подавляющая концентрация дитерпеновых кислот, мкг/мл
Водный настой (1:20)	0,06 ± 0,009	1:64	9,4
Настой на 1 %-ном водном растворе NaHCO <sub>3</sub> (1:20)	0,22 ± 0,01	1:256	8,6
Спиртовой экстракт (1:15), полученный без обработки сырья HCl	0,23 ± 0,02	1:256	9,0
Спиртовой экстракт (1:15), полученный после обработки сырья HCl	0,37 ± 0,02	1:512	7,2

стоев с высокой антибактериальной активностью рекомендуется вместо воды использовать 1 %-ный раствор натрия гидрокарбоната.

### ВЫВОДЫ

1. Разработаны способы получения спиртовых и водных извлечений из листьев шалфея с высоким выходом суммы дитерпеновых кислот.

2. Антибактериальная активность полученных извлечений прямо коррелирует с содержанием в них дитерпеновых кислот.

3. Для получения настоев с высокой антибактериальной активностью из листьев шалфея предлагается вместо воды использовать 1 %-ный раствор натрия гидрокарбоната.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Листья шалфея: фармакоп. ст. Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд. МЗ СССР. Лекарственное растительное сырье. М.: 1989. Вып. 2. С. 269.
2. Настои и отвары: фармакоп. ст. Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд. МЗ СССР. Лекарственное растительное сырье. М. 1989. Вып. 2. С. 147.
3. Зилфикаров И.Н. Дитерпены и полифенолы шалфея лекарственного: перспективы медицинского применения (обзор литературы) // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2007. Вып. 3. С. 149 – 157.
4. Зилфикаров И.Н., Жилин А.В. Определение дитерпеновых кислот в сырье и препаратах шалфея лекарственного // Фармация. 2007. С. 7–9.
5. ФС 42-2352-85. Сальвин / Фармакопейный государственный комитет. Введ. 05.10.85. М. 1985. 4 с.

Поступила после доработки 10 мая 2012 г.

## A STUDY ABOUT PRODUCTION SAGE LEAVES EXTRACTS OPTIMIZED BY AMOUNT OF DITERPENIC ACIDS AND STUDING THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY

© Authors, 2013

R.Sh. Khaziev, A.S. Makarova, L.T. Musina

The purpose of this study was to produce a method of extraction from sage leaves with a high output of diterpenic acids and to learn the antimicrobial activity of these extracts. This study was done on sage leaves received from the retail pharmacy. The conditions providing high output of diterpenic acids, both in ethanolic and in aqueous extracts, were chosen. The estimation of antimicrobial activity of the received extract, measured using the culture of *Staphylococcus aureus* ATTC 6538-P, has shown direct relation between the amount of diterpenic acids in the extract and its antimicrobial activity. It is offered for the preparation of sage leaves infusions with high antibacterial activity to use 1 % solution of sodium hydrocarbonate instead of water.