

получить мумиё высокого качества, а также сокращают общее время производственного процесса.

Список литературы:

1. Пат. 2001618 РФ А61К 35/00. Способ получения экстракта мумие / Корниенко Б.Г. (РФ)

– №5014637/14 (РФ), заявл. 02.12.1991; опубл. 30.10.1993, Бюл. № 39-40.

2. Пат. 2050801 РФ А 23 Р 1/06. Способ промышленной очистки мумие-сырца [Электронный ресурс] / Нарбеков О.Н., Корчубеков Б.К., Садыров О.А., Дейдиев А.У. (КГ) – №5040139/13 (РФ), заявл. 27.04.1992; опубл. 27.12.1995. – Режим доступа: <http://www.fips.ru>.

УДК:615,322,074;076.7

ИЗУЧЕНИЕ ИРИДОИДНОГО СОСТАВА И АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ ОЛИВЫ (OLEA EUROPAEA).

DOI: [10.31618/ESU.2413-9335.2019.1.67.341](https://doi.org/10.31618/ESU.2413-9335.2019.1.67.341)

© Авторы, 2018:

Бутенко Людмила Ивановна

к. хим. н., ст. преподаватель кафедры органической химии¹,

Постникова Надежда Васильевна

к. биол. н., ст. преподаватель, кафедра биологии и физиологии¹.

Васина Татьяна Михайловна

к. фарм. н., ст. преподаватель кафедры неорганической, физической и коллоидной химии¹.

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, 357532, Россия, г. Пятигорск, пр. Калинина, д. 11, кафедра органической химии,

РЕЗЮМЕ

На острове Крит смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в десятки раз меньше, чем в других европейских странах и странах Северо-Американского континента. Это связано, главным образом, с высоким уровнем потребления оливкового масла, которое содержит много Ссекоиридоида-олеуропина, мощнейшего антиоксиданта.

Целью нашего исследования является изучение иридоидного состава сухих экстрактов на основе водного и спиртового извлечений листьев оливы (OLEA EUROPAEA) и исследование антимикробной активности полученных экстрактов.

В результате фармако-технологического изучения листьев оливы (OLEA EUROPAEA), были получены сухие экстракты 1 на основе водного извлечения и 2 на основе спиртового извлечения, содержащие основные группы БАВ.

Доказано, что иридоиды листьев оливы переходят в основном в спиртовый экстракт. Установлено, что в листьях оливы (OLEA EUROPAEA) содержание иридоидов составляет 0,32±0,02%.

Установлено, что антимикробное действие характерно для сухих экстрактов 1 и 2. У экстракта 1 выявлено выраженное антибактериальное действие по отношению к стафилококку, бацилам, протею, вибриону, т.е. как к грамположительным, так и к грамотрицательным бактериям. У экстракта 2 отмечен более широкий спектр антибактериального действия по сравнению с экстрактом 1: антибактериальное действие у него выявлено по отношению ко всем исследуемым тест-культурам (как к грамположительным, так и к грамотрицательным) и наиболее выраженным оно было по отношению к стафилококку, бациллами вибриону.

SUMMARY

On the island of Crete, mortality from cardiovascular diseases is ten times less than in the Central European countries and the United States. This is mainly due to the high consumption of olive oil, which contains a lot of oleuropein (a), a powerful antioxidant

The aim of our study is to study the iridoid composition of dry extracts based on water and alcohol extracts of olive leaves (OLEA EUROPAEA) and study the antimicrobial activity of the extracts

As a result of the pharmacological and technological study of olive leaves (OLEA EUROPAEA), dry extracts were obtained 1 based on water extraction and 2 based on alcohol extraction, containing the main groups of BAS.

It is proven that olive leaf iridoids are moving mostly in the alcoholic extract.

It is established that antimicrobial action is typical for dry extracts 1 and 2.

The extract showed pronounced 1 antibacterial action against Staphylococcus aureus, bacilli, Proteus, Vibrio, i.e. as to gram-positive and to gram-negative bacteria

In the extract 2 marked a broader spectrum of antibacterial action compared to extract 1: antibacterial action he has against all investigated test cultures (as gram-positive and gram-negative) and it was most pronounced against Staphylococcus aureus, bacilli to Vibrio

Ключевые слова: экстракт листьев оливы, олеуропин, качественные характеристики иридоидов, антимикробная активность, тест-культуры.

Key words: olive leaf extract, oleuropein, iridoid quality characteristics, antimicrobial activity, test cultures.

Введение.

На острове Крит смертность от сердечно-сосудистых заболеваний в десятки раз меньше, чем в других европейских странах и странах Северо-Американского континента. Это связано, главным

образом, с высоким уровнем потребления оливкового масла, которое содержит много секоиридоида олеуропеина, мощнейшего антиоксиданта.



Олеуропеин впервые был выделен из плодов и листьев дерева оливы (*Olea europaea*). Он обладает широким спектром фармакологической

активности, а также гипотензивной активностью, препятствует накоплению холестерина [1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15].

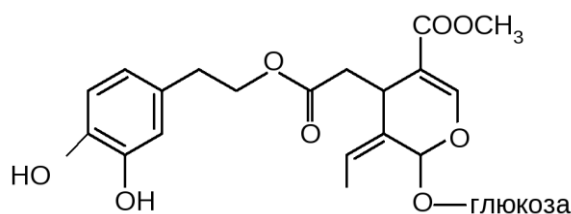


Рис. 1. Формула олеуропеина.

Секоиридоид - олеуропеин способствует образованию азотной кислоты, которая является мощным сосудорасширяющим фактором, определяющим гипотензивное действие, и имеет значительную антибактериальную, противопаразитарную и противогрибковую активность.

Целью нашей работы является исследование иридоидного состава сухих экстрактов на основе водного и спиртового извлечений листьев оливы (*OLEA EUROPAEA*) а также установление антимикробной активности полученных экстрактов.

Материалы и методы исследования. Листья оливы (*OLEA EUROPAEA*), произрастающей в Калифее острова Родос.

Методика получения сухого экстракта листьев оливы (*OLEA EUROPAEA*).

Получение экстракта листьев оливы. Высушенное и измельчённое сырьё экстрагировали растворителем методом ремацерации. Использование в качестве растворителя воды и спирта были получены два сухих экстракта: на

основе водного извлечения (далее называемый экстракт 1) и на основе спиртового извлечения (далее называемый экстракт 2).

Изучение физико-химических характеристик: УФ- спектры полученных экстрактов исследовали на спектрофотометре СФ 103 в кварцевых кюветах толщиной 1 см. Растворитель и раствор сравнения – спирт этиловый.

Для качественного определения иридоидов в экстрактах листьев оливы использовали следующие реактивы [16]:

Реактив Трим-Хилла: смесь кислот уксусной ледяной, хлористоводородной концентрированной и 0,2% водного раствора меди сульфата (20:1:2).

Реактив Шталя: 1 г п-диметиламинобензальдегида, 5 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и этанол – до 100 мл.

Реактив Бэкон- Эдельмана: 0,5 г бензидина, 10 г трихлоруксусной кислоты и этанол – до 100 мл.

Реактив Година: 1 г ванилина, 50 мл 3% водного раствора хлористоводородной кислоты и этанол – до 100 мл.

Методика количественного определения суммарного содержания иридоидов. Аналитическую пробу около 0,5 г (точная навеска) листьев оливы измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито (диаметр отверстий 0,5 мм), и помещали в коническую колбу объемом 200 мл с 40 мл смеси хлороформ – этанол 95% (5 : 1), закрывали пробкой и перемешивали в течение 45 мин. Полученное извлечение фильтровали через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. Операцию повторяли еще 2 раза и извлечения и фильтровали в ту же мерную колбу и доводили объем раствора до метки смесью хлороформ – этанол 95% (5 : 1). 20 мл извлечения разбавляли 10 мл воды и упаривали под вакуумом при температуре 40–50 °С до водного остатка. Водный остаток фильтровали через бумажный фильтр, смоченный водой, в мерную колбу объемом 10 мл, при необходимости доводили объем до метки (раствор А). Раствор Б готовили следующим образом: в колбе на 25 мл смешивали 5 мл раствора А с 5 мл гидроксилamina (щелочного раствора). Через 20 мин приливали 5 мл 1% раствора хлорида железа (III) в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты, и доводили до метки раствором кислоты хлороводородной (1 М).

После перемешивания измеряли оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 512 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

В качестве раствора сравнения использовали смесь из 5 мл раствора А, 5 мл воды, 10 мл 1 М раствора кислоты хлороводородной и 5 мл 1% раствора хлорида окисного железа в 0,1 М растворе хлороводородной (Х) кислоты.

Содержание суммы ИР в пересчете на абсолютно сухое сырье (в %) вычисляли по формуле

$$X = \frac{A \times 100 \times 10 \times 25 \times 100d}{56 \times m \times 20 \times 5 \times (100 - W)}$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора,

m – навеска сырья, г,

W – влажность сырья, %,

56 – удельный показатель поглощения продуктов реакции.

Антибактериальное действие полученных объектов определяли способом «колодцев». Способ основан на диффузии испытуемых веществ из «колодцев» в питательный агар, засеянный различными тест – культурами. Этот принцип диффузии положен в основу фармакопейного метода (ГФ12) [16] определения антимикробной активности антибиотиков. При выполнении метода рекомендованный слой агара в чашках Петри засеивали 2 мл 100 – млн взвесей суточных тест – культур, излишек взвесей удаляли, чашки подсушивали; сверлом с диаметром 6 мм пробурывали отверстия («колодцы») на расстоянии 2,5 см от центра и на одинаковом расстоянии друг от друга. Колодцы заполняли исследуемыми объектами – образцами нативной грязи, бальзама и шрота. Через 16 – 18 часов инкубации в термостате измеряли диаметры зон отсутствия и (или) угнетения роста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Из листьев оливы произрастающей в Калифее были получены два сухих экстракта на основе водного и спиртового извлечений, которые исследовали на содержание иридоидов. Результаты качественных реакций приведены в таблице 1

Таблица 1

КАЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА СОДЕРЖАНИЕ ИРИДОИДОВ ЭКСТРАКТОВ ОЛИВЫ.

| Реактивы | Окраска водного экстракта(э) | Окраска спиртового экстракта |
|------------|------------------------------|------------------------------|
| Трим-Хилла | Желтый | Зеленый |
| Шталя | Зеленый | Красный |
| Ванилин | Желтый | Зеленый |
| Бензидин | Коричневый | Коричневый |

Как видно из таблицы 1, иридоиды хорошо растворимы в спирте, и поэтому переходят в спиртовый экстракт.

Для количественной оценки содержания иридоидов использовали метод спектрофотометрии продуктов гидроксамовой реакции по усовершенствованной методике [17]. Метод – основа для экстракции сырья смесью хлороформ – этанол (5 : 1), а затем после удаления растворителя проводили экстракцию водой. Смена растворителя позволила исключить влияние

сопутствующих веществ на результаты гидроксамовой реакции.

Установлено, что в листьях оливы (OLEA EUROPAEA) содержание иридоидов составляет 0,32±0,02%.

В народной медицине листья оливы используются для приготовления лечебного чая, который благотворно влияет на организм человека, улучшают здоровье и помогают защитить от многих серьезных заболеваний [18]. Поэтому далее

для экстрактов 1 и 2 были исследована антимикробная активность.

Определение антибактериального действия выполняли способом «колодцев», основанный на диффузии исследуемых веществ, помещенных в «колодцы» питательного агар, засеянного различными тест-культурами. Этот принцип диффузии положен в основу фармакопейного метода определения антимикробной активности антибиотиков [1]. Антибактериальное действие изучали по отношению к 7 тест-культурам: стафилококкам (№№1 тест-культура), энтеробактериям (№ 2,3, 4), вибриону (№ 5 тест-культура) и бациллам (№№ 6, 7 тест-культуры): - 1.

Staphylococcus aureus «Type»; 2. Escherichia coli 675; 3. Escherichia coli-15; 4- Proteus vulgaris; 5- Vibrio aquatilis; 6. Bacillus subtilis L₂; 7. Bacillus anthracoides 96 При выполнении метода толстый слой агара в чашках Петри засеивали 2 мл 100-млн взвесей суточных тест-культур, излишек взвесей удаляли, чашки подсушивали; сверлом диаметром 5 мм пробурывали отверстия («колодцы») на расстоянии 2,5 см от центра и на одинаковом расстоянии друг от друга. Колодцы заполняли исследуемыми объектами. Через 16-18 часов инкубации в термостате измеряли диаметры зон отсутствия и угнетения роста. Полученные данные представлены в таблице №2

Таблица №2

АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА ОЛИВЫ ЛИСТЬЕВ

| Исследуемые объекты | Тест-культуры | | | | | | |
|---------------------|---------------------------------|---|---|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | Диаметр зон задержки роста (мм) | | | | | | |
| 1 | 16 | - | - | 14 | 15 | - | 12 |
| 2* | 16 | 9 | 9 | 10 | 14 | 10 | 15 |

Условные обозначения: Исследуемые объекты: 1- экстракт оливы листьев водный раствор; 2- экстракт оливы листьев спиртовой раствор; - антибактериальное действие не выявлено; * - результаты антибактериального действия экстракта оливы спиртового раствора приведены с поправкой на антибактериальное действие растворителя.

У экстракта **оливы водного раствора** не выявлено антибактериальное действие по отношению к 2, 3, и 6 тест-культурам и выявлено выраженное антибактериальное действие ко всем остальным тест-культурам.

У экстракта **оливы спиртового раствора** антибактериальное действие выявлено по отношению ко всем исследуемым тест-культурам: слабо выраженное по отношению ко №№ 2,3 тест-культурам и заметно выраженное к 1,4,5,6,7 тест-культурам.

Заключение

Общие выводы

В результате фармако- технологического изучения листьев оливы (OLEA EUROPAEA), были получены сухие экстракты 1 на основе водного извлечения и 2 на основе спиртового извлечения, содержащие основные группы БАВ.

Установлено, что в листьях оливы (OLEA EUROPAEA) содержание иридоидов составляет $0,32 \pm 0,02\%$.

Для экстракта **оливы водного раствора** выявлено выраженное антибактериальное действие по отношению к стафилококку, бациллам, протею, вибриону, т. е. как к грамположительным, так и к грамотрицательным бактериям.

Для экстракта **оливы спиртового раствора** отмечен более широкий спектр антибактериального действия по сравнению с экстрактом **оливы водным раствором**. Антибактериальное действие у первого выявлено

по отношению ко всем исследуемым тест-культурам (как к грамположительным, так и к грамотрицательным) и наиболее выраженным оно было по отношению к стафилококку, бациллам и вибриону.

Более широкий спектр антимикробного действия спиртового раствора изучаемого экстракта по сравнению с водным раствором может быть обусловлен лучшей растворимостью в спирте БАВ, ответственных за антибактериальное действие.

Библиографический список

- 1 The metabolic and vascular protective effects of Olive (*Olea europaea* L.) leaf extract in diet-induced obesity in mice are related to the amelioration of gut microbiota dysbiosis and to its immunomodulatory properties. Vezza T, Rodriguez-Nogales A, Algieri F, Garrido-Mesa J, Romero M, Sanchez M, Toral M, Martín-García B, Gómez-Caravaca AM, Arráez-Román D, Segura-Carretero A, Micol V, García F, Utrilla MP, Duarte J, Rodríguez-Cabezas ME, Gálvez J. *Pharmacol RES.* 2019 окт 11: 104487. doi: 10.1016
- 2 Olive tree physiology and chemical composition of fruits are modulated by different deficit irrigation strategies. Gonçalves A, Silva E, Brito C, Martins S, Pinto L, Dinis LT, Luzio A, Martins-Gomes C, Fernandes-Silva A, Ribeiro C, Rodrigues MÁ, Moutinho-Pereira J, Nunes FM, Correia CM. *J Sci Food Agric.* 2019 Oct 3. doi: 10.1002
- 3 Eco-Friendly Extraction and Characterisation of Nutraceuticals from Olive Leaves. Benincasa C, Santoro I, Nardi M, Cassano A, Sindona G. *Molecules.* 2019 Sep 25;24 (19). pii: E3481. doi: 10.3390
- 4 Health Effects of Phenolic Compounds Found in Extra-Virgin Olive Oil, By-Products, and Leaf of *Olea europaea* L. Romani A, Ieri F, Urciuoli S, Noce A,

Marrone G, Nediani C, Bernini R. *Nutrients*. 2019 Aug 1; 11 (8). pii: E1776. doi: 10.3390

5 Addition of OliveLeaf Extract (OLE) for Producing Fortified Fresh Pasteurized Milk with An Extended Shelf Life. Palmeri R, Parafati L, Trippa D, Siracusa L, Arena E, Restuccia C, Fallico B. *Antioxidants (Basel)*. 2019 Jul 30;8 (8). pii: E255. doi: 10.3390 /

6 Cold-Pressing Olive Oil in the Presence of Cryomacerated Leaves of Olea or Citrus: Nutraceutical and Sensorial Features. Sanmartin C, Taglieri I, Macaluso M, Sgherri C, Ascrizzi R, Flamini G, Venturi F, Quartacci MF, Luro F, Curk F, Pistelli L, Zinnai A. *molecules*. 2019 19 July; 24 (14). pii: E2625. doi: 10.3390

7 Continuous Bioconversion of Oleuropein from OliveLeaf Extract to Produce the Bioactive Product Hydroxytyrosol Using Carrier-Immobilized Enzyme. Liu M, Yong Q, Lian Z, Huang C, Yu S. *Appl Biochem Biotechnol*. 2019 16 July. doi: 10.1007

8 Characterization of bioactive compounds in commercial oliveleaf extracts, and oliveleaves and their infusions Medina E, Romero C, Garcia P, Brenes M. *Food Function*. 2019 Aug 1; 10 (8):4716-4724. doi: 10.1039

9. Indirect Chronic Effects of an Oleuropein-Rich OliveLeaf Extract on Sucrase-Isomaltase In Vitro and In Vivo. Pyner A, Chan SY, Tumova S, Kerimi A, Williamson G. *Nutrient materials*. 2019 Jul 1;11 (7). pii: E1505. doi: 10.3390

10 Effect of oleuropein on morphine-induced hippocampus neurotoxicity and memory impairments in rats. Shibani F, Sahamsizadeh A, Fatemi I, Allahtavakoli M, Hasanshahi J, Rahmani M, Azin M, Hassanipour M, Mozafari N, Kaeidi A. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2019 Ноя; 392 (11):1383-1391. doi: 10.1007

11 Root verbascoside and oleuropein are potential indicators of drought resistance in olive trees (*Olea*

europaea L.). Mechri B, Tekaya M, Hammami M, Chehab H. *Physiol-Biochemistry Of Plants*. 2019 Aug; 141: 407-414. doi: 10.1016.

12 Chemical, physical and biotechnological approaches to the production of the potent antioxidant hydroxytyrosol. Britton J, Davis R, O'Connor KE. *Аплл Microbiol Biotechnol* . 2019 Aug; 103 (15):5957-5974. doi: 10.1007

13. Oleuropein modulates glioblastoma miRNA pattern different from *Olea europaealeaf* extract. Tezcan G, Aksoy SA, Tunca B, Bekar A, Mutlu M, Cecener G, Egeli U, Kocaeli H, Demirci H, Taskapilioglu MO. *ГУМ Exhibits Toxicol* .2019 Sep; 38 (9):1102-1110. doi: 10.1177 /

14 Oliveleaf tea is beneficial for lipid metabolism in adults with prediabetes: an exploratory randomized controlled trial. Араки Р, Fujie K, Yuine N, Watabe Y, Nakata Y, Suzuki H, Isoda H, Hashimoto K. *Nutr Res*. 2019 Jul; 67:60-66. doi: 10.1016

15. Extraction of oleuropein and luteolin-7-O-glucoside from oliveleaves: Optimization of technique and operating conditions. Lama-Muñoz A, Del Mar Contreras M, Espínola F, Moya M, de Torres A, Romero I, Castro E. *food chemistry* . 2019 Sep 30;293: 161-168. doi: 10.1016

16. Государственная фармакопея СССР: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырьё /МЗ СССР.- X1 изд.-М.: Медицина,1990.- Вып.2 – С.210-213.

17. Определение иридоидов в траве татарника колючего (*опорordum acanthium* L., род *опорordum*) химия растительного сырья Л.Р. Иванова, Л.И. Бутенко , Л.В. Лигай, В.Г. Сбежнева./ 2010. №4. С. 131–133

18. Знакомство с необыкновенным оливковым чаем. / <http://yandex.ru/clck/jsredir?bu=2ylygv&from=yandex.ru>