

ФУНГИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ ФЛОРЫ ВЬЕТНАМА

**С.В. Ризевский, В.П. Курченко, Г.Г. Сенькевич, Л.Т.М. Хыонг*, Ф.К. Лонг*,
Н.В. Хунг**, С.В. Буга, Н.В. Воронова, О.А. Лукашук, Е.Г. Веремеенко**

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

**Институт химии природных соединений ВАНТ, Ханой, Вьетнам*

***Институт морской биохимии ВАНТ, Ханой, Вьетнам*

e-mail: kurchenko@tut.by

Введение

При лечении микозов кожи используется широкий ассортимент лекарственных средств, которые зачастую неэффективны. В связи с этим ведется поиск новых перспективных фунгицидных соединений. Их источниками могут выступать препараты растительного происхождения, в частности эфирные масла тропической флоры. Многие растения Вьетнама отличаются высокой устойчивостью к различным заболеваниям, которые вызываются бактериями или грибами. Их адаптация к постоянному воздействию патогенов связана с синтезом вторичных метаболитов с выраженной антимикробной и фунгицидной активностью [1]. Среди таких соединений особое место занимают терпеновые и терпеноидные компоненты эфирных масел. В связи с этим, представляется целесообразным исследовать состав эфирных масел некоторых растений флоры Вьетнама и изучить их фунгицидную активность.

Не менее важными являются разработка новых лекарственных форм, обеспечивающих эффективное лечение микозов. Перспективной формой носителя фунгицидных лекарственных субстанций являются криогели хитозана. Хитозан – это катионный водорастворимый полиэлектролит [2]. Благодаря своей химической природе он способен к различным видам взаимодействия, с образованием 4 основных типов связей: ионных, водородных, гидрофобных, связей по типу комплексообразования, в котором хитозан выступает в роли ядра комплекса. Ионные взаимодействия происходят за счет аминной группы. Поликатионный характер данного полисахарида открывает широкие перспективы его использования. Наличие реакционноспособной аминной группы в ангиdropиранозном мономерном звене хитозана позволяет использовать этот биополимер для получения ковалентно сшитых гидрогелей, способных удерживать до 10000% воды [3]. Процессы гелеобразования в системах растворитель – полимер – сшивающий агент возможны не только при положительных значениях температуры, но и в неглубоко замороженной среде. В таких условиях замороженный препарат состоит из поликристаллов вымороженного растворителя и так называемой незамерзшей жидкой микрофазы, в которой концентрируются компоненты исходного раствора и продукты реакции. На основе этих представлений был синтезирован криогель хитозана. Такой криогель обладал высокой сорбционной способностью, биосовместимостью, биodeградируемостью, нетоксичностью и бактерицидностью. Он стал основой для включения эфирных масел и последующего исследования их фунгицидных свойств. Препараты на основе комплексов криогелей с биологически активными терпеновыми соединениями должны обладать пролонгированным действием за счет постепенного высвобождения сорбированных веществ.

Целью данной работы являлась оценка фунгицидной активности эфирных масел ряда растений флоры Вьетнама, сорбированных на хитозановых криогелях.

Методы исследования

Эфирные масла 30 видов растений тропической флоры были получены методом перегонки с водяным паром в Институте химии природных соединений и Институте морской биохимии Вьетнамской академии наук и технологий [4].

Исследования состава летучих компонентов эфирных масел проводились с использованием газового хроматографа Agilent 6850, оснащенного масс-детектором 5975В по описанной ранее методике [5]. Идентификацию компонентов эфирного масла проводили по сравнению масс-спектров с соответствующими данными библиотеки NIST0.5a.

Криогели получали по ранее описанной методике [3], с использованием хитозана производства ЗАО «Биопрогресс» с молекулярной массой 330 кДа и степенью дезацетилирования 89%. В качестве сшивающего агента применяли глутаровый альдегид из такого расчета, чтобы в конечной смеси формальное мольное соотношение NH₂-групп хитозана и СНО-групп глутарового альдегида составляло 5:1. При формировании криогелей, выход гель-фракции превышал 95%. Степень набухания составляла 210%. Гели способны удерживать до 3000% воды.

Для приготовления комплексов криогеля с компонентами эфирных масел на его поверхность наносили 2 мл 10% раствора эфирного масла в 30% спирте и оставляли на 4 часа для набухания. Затем гель отжимали и использовали в дальнейшей работе.

Фунгицидную активность суммарных комплексов криогеля и биологически активных веществ изучали методом блоков в чашках Петри на плотной агаризованной среде Сабуро. В центре чашки помещался стерильный хитозановый блок из криогеля, пропитанный соответствующим эфирным маслом, предварительно пропущенным через бактериальный фильтр. По периметру бляшками засеивали 4 колонии гриба. В качестве тест-культуры использовали клинический изолят распространенного возбудителя грибковых заболеваний человека – *Candida albicans*. Контролями служили криогели пропитанные водой (контроль 1) и 30% этиловым спиртом (контроль 2). Диаметр колоний гриба измеряли спустя 5 суток инкубирования при 37°C. Степень ингибирования роста колоний гриба (I) рассчитывали по следующей формуле:

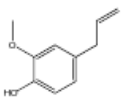
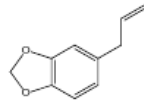
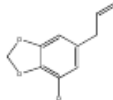
$$I=100-((D_0/D_k) \times 100),$$

где D_к и D_о – средний диаметр колонии гриба соответственно в контроле и опыте [6].

Результаты и обсуждение

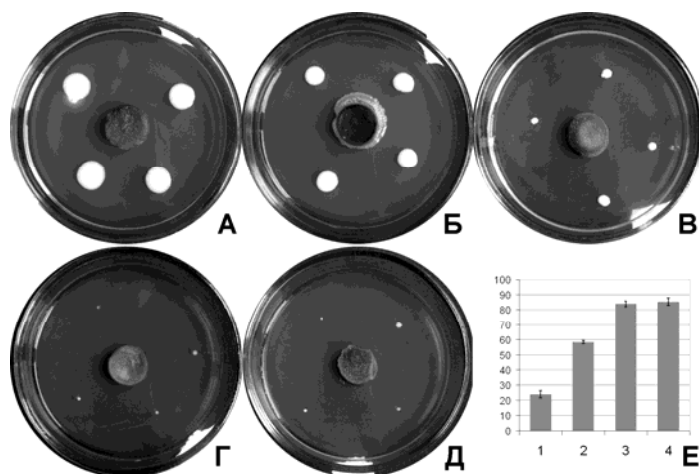
Хроматографический анализ состава эфирных масел 30 видов растений тропической флоры Вьетнама позволил идентифицировать в них более 70 индивидуальных соединений терпеновой природы. Для дальнейшего исследования были выбраны масла *Michelia tonkinensis* A. Chev., *Talauma betongensis* Craib. и *Syzygium aromaticum* (L.) Merr., Perry, отличающиеся значительным количеством фенилпропаноидных соединений и обладающих выраженной активностью в отношении различных групп грибов и микроорганизмов [7]. Основную долю этих эфирных масел составляли отдельные эфиры терпенов фенилпропаноидной природы – сафрол для *Talauma betongensis*, сафрол и миристицин для *Michelia tonkinensis*, и эвгенол для *Syzygium aromaticum* (таблица 1).

Таблица 1 – Количественное содержание (% отн.) основных идентифицированных компонентов эфирных масел *Talauma betongensis*, *Michelia tonkinensis* и *Syzygium aromaticum*

Наименование компонента	Структурная формула	Относительное содержание, %		
		<i>Talauma betongensis</i>	<i>Michelia tonkinensis</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>
Эвгенол		–	0,32	84,41
Сафрол		44,01	41,44	–
Миристицин		–	45,12	–

При получении комплексов эфирных масел с криогелями показана высокая сорбционная способность хитозана в отношении основных терпеноидных соединений – сафрола, миристицина и эвгенола, превышающая во всех случаях 80%.

Исследование фунгицидной активности комплексов криогеля хитозана с компонентами эфирных масел в отношении *C. albicans* (рисунок 1) показало, что эфирное масло *Talauma betongensis* нанесенное в количестве 0,2 мг на использованный криогель вызывает ингибирование роста грибов на 89% по отношению к контролю 1 (вода). Криогель с 0,2 мг эфирного масла *Syzygium aromaticum* уменьшает рост колонии *Candida albicans* на 83%. Фунгицидная активность комплекса криогеля с 0,2 мг масла *Michelia tonkinensis* оказалась не столь значительна и составила 59%. Этанол (контроль 2) вызывал ингибирование роста колоний на 23%.



А – контроль 1 (вода), 2 – контроль 2 (30% этанол), Е – степень ингибирования роста колоний *C. albicans* 30% этанолом (1), эфирными маслами *Michelia tonkinensis* (2), *Syzygium aromaticum* (3), *Talauma betongensis* (4) по отношению к контролю 1 (вода)

Рисунок 1 – Фунгицидная активность комплексов криогелей хитозана с эфирными маслами *Michelia tonkinensis* (B), *Syzygium aromaticum* (Г), *Talauma betongensis* (Д)

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что фунгицидная активность исследованных эфирных масел определяется доминирующими в их составе фенилпропаноидными соединениями: сафролом, эвгенолом, миристицином. Эти результаты коррелируют с ранее описанными бактерицидными и инсектицидными свойствами этих биологически активных веществ [7].

Выводы

Таким образом, в ходе работы изучен состав эфирных масел ряда растений флоры Вьетнама, получены комплексы криогелей хитозана с компонентами эфирных масел *Talauma betongensis*, *Syzygium aromaticum* и *Michelia tonkinensis*, оценена их активность в отношении патогенных грибов *Candida albicans*, которая составила 89%, 83% и 59%, соответственно. Наиболее перспективным в качестве основы для фунгицидных средств при лечении микозов видится эфирное масло гвоздики и его основной компонент – эвгенол, применение которого разрешено в пищевой промышленности, медицине и косметике. При разработке лекарственных форм, содержащих эфирные масла растений и их отдельные компоненты, удобным носителем выступает криогель хитозана, благодаря высокой сорбционной способности и уникальным биологическим свойствам.

Список литературы

1. Дмитрук, С.Е. Антифунгальные свойства биологически активных веществ некоторых представителей флоры Сибири: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук / С.Е. Дмитрук – Харьков, 1991. – 18 с.
2. Варламов, В.П. Хитин и хитозан: природа, получение и применение / В.П. Варламов, С.В. Немцев, В.Е. Тихонов // Изд-во Российского Хитинового Общества, 2010. – С. 292.
3. Синтез и свойства криогелей хитозана, сшитого глутаровым альдегидом / В.В. Никоноров [и др.] // Высокомолекулярные соединения. Сер.: А. – 2010. – Т. 52, № 8. – С. 1436–1443.
4. Государственная Фармакопея РБ: Общие методы контроля качества лекарственных средств / Центр экспертизы и испытаний в здравоохранении; под общ. ред. Годовальникова Г.В. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии. – 2006. – 650 с.
5. Компонентный состав эфирных масел представителей рода *Juniperus* L. в условиях интродукции в Беларуси / А.Г. Шутова [и др.] // Растительные ресурсы. – 2011. – Вып. 1. – С. 72–79.
6. Феклистова, И.Н. Бактерии *P. aurantiaca* B-162 как основа биопрепаратов для защиты растений / И.Н. Феклистова, Н.М. Максимова // Земляробства і ахова раслін. – 2006. – № 2. – С. 442–444.
7. Куркин, В.А. Фармакогнозия / В.А. Куркин. – Самара: ООО "Офорт", 2004. – 1180 с.