



Е.А. Красных¹, В.И. Мозуль², В.С. Доля², Е.Н. Очкасова³

Изучение химического состава и антибактериальной активности эфирного масла *Cupressus sempervirens* L.

¹Медицинский центр «Аура», г. Запорожье,

²Запорожский государственный медицинский университет,

³Запорожская областная клиническая больница

Ключові слова: кипарис вічнозелений, ефірна олія, хромато-мас-спектрометрія, антибактеріальна дія.

Ключевые слова: кипарис вечнозеленый, эфирное масло, хромато-масс-спектрометрия, антибактериальное действие.

Key words: *Cupressus sempervirens* L., essential oil, chromat-mass-spectrometry, antibacterial action.

При дослідженні якісного складу та кількісного вмісту основних компонентів ефірної олії кипарису вічнозеленого встановлено, що переважаючими сполуками є α -пінен (33,725%), Δ^3 -карен (13,843%) і α -кедрол (8,031%). Найбільшу антимікробну дію ефірної олії кипарису спостережено відносно до штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 і *Escherichia coli* ATCC 25922. Кипарис вічнозелений є перспективною лікарською рослиною для отримання антимікробних засобів.

При изучении качественного состава и количественного содержания основных компонентов эфирного масла кипариса вечнозеленого установлено, что преобладающими соединениями являются α -пинен (33,725%), Δ^3 -карен (13,843%) и α -кедрол (8,031%). Наиболее выраженное антимикробное действие эфирного масла кипариса отмечено на штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Escherichia coli* ATCC 25922, что является перспективным для получения антимикробных средств.

The qualitative composition and quantitative content of the main components of *Cupressus sempervirens* L. essential oil were determined. 40 components identified in the essential oil. The basic components of leaves *Cupressus sempervirens* L. essential oil are α -pinen (33,725%), Δ^3 -karen (13,843%), α -kedrol (8,031%). Essential oil show active antimicrobial effects against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Escherichia coli* ATCC 25922. The leaves of *Cupressus sempervirens* L. are a perspective medicinal raw material for making antimicrobial drugs.

Несмотря на бурное развитие химической промышленности, проблема поиска новых лекарственных препаратов растительного происхождения остается актуальной.

В настоящее время значительное внимание уделяется фармакологическим исследованиям и химии эфирных масел. Эта группа природных веществ обладает широким спектром терапевтического действия при незначительной токсичности [9].

Род кипарис (*Cupressus*) насчитывает 14 видов растений, широко произрастающих в Евразии, Северной Америке, Северной Африке. Самый распространенный – кипарис вечнозеленый пирамидальный, культивируемый на Черноморском побережье Кавказа, в Средней Азии. В Крыму культивируется с 1787 г., куда ввезен из Константинополя [2,3].

Плоды, листья, побеги кипариса вечнозеленого (*Cupressus sempervirens* L.) используются с древних времен при кровоизлияниях, варикозном расширении вен, геморрое, маточных кровотечениях, гриппе, спазмах, раздражительности, желудочно-кишечных заболеваниях [3,4,8]. В китайской медицине шишки используют для стимуляции работы печени [10]. В современной медицине некоторых стран эфирное масло и галеновые препараты кипариса используют при подагре, гипергидрозе, при стоматитах, гингивитах, варикозном расширении вен [4–6,9].

Эфирное масло кипариса оказывает антисептическое, тонизирующее, бактерицидное, инсектицидное, вяжущее, сосудосуживающее, спазмолитическое действие. Его назначают при бронхо-легочных заболеваниях, кисте яичников, нервных и эмоциональных расстройствах, дерматитах, при аллергических заболеваниях [7,9,11].

Химический состав различных органов кипариса вечнозеленого (*Cupressus sempervirens* L.) изучен недостаточно.

Цель работы

Определение качественного состава и количественного содержания основных компонентов эфирного масла *Cupressus sempervirens* L. и изучение его антибактериальной активности.

Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали образцы сырья кипариса (*Cupressus sempervirens* L.), собранные в 2011 г. в разных районах АР Крым.

Эфирное масло получали методом гидродистилляции. Физико-химические показатели определяли фармакопейными методами [1].

Качественный и количественный состав эфирного масла кипариса вечнозеленого исследовали с помощью газового хроматографа Agilent Technology 6890 с масс-спектрометрическим детектором 5973.

Таблица 1

Качественный и количественный состав эфирного масла кипариса вечнозеленого

Время удерживания	Содержание, %	Компоненты эфирного масла
7,35	0,423	α-туйен
7,73	33,725	α-пинен
8,09	0,504	α-фенхен
8,15	0,213	камфен
8,87	2,932	сабинен
9,06	2,013	β-пинен
9,37	4,201	мирцен
10,15	13,843	Δ ³ -карен
10,36	0,477	α-терпинен
10,62	0,357	сильвестрен
10,83	4,181	лимонен
10,88	0,317	β-фелландрен
11,81	1,048	γ-терпинен
12,62	0,202	изотерпинолен
12,81	4,436	терпинолен
13,27	0,418	линалоол
15,83	0,199	умбеллулон
16,30	3,300	терпинен-4-ол
16,79	0,440	α-терпинеол
18,19	0,169	метилкарвакрол
19,58	1,128	борнилацетат
19,84	0,288	не идент.
20,56	0,165	миртенилацетат
20,80	0,867	терпинен-4-ол ацетат
21,16	4,754	α-терпинилацетат
22,82	1,190	β-кариофиллен
22,94	0,182	β-фунебрен
23,53	1,305	гумулен
23,64	0,179	цис-муурола-4(14),5-диен
23,86	0,237	не идент.
24,02	2,100	гермакрен D
24,63	0,367	δ-кадинен
25,27	0,299	не идент.
25,82	0,244	кариофилленоксид
26,10	0,538	не идент.
26,36	8,031	α-кедрол
26,76	0,166	не идент.
26,94	0,352	α-кадинол
27,29	0,350	валеранон
27,81	0,483	валереналь
29,85	0,196	не идент.
31,71	0,490	маноилоксид
31,80	1,134	изопимарадиен
32,41	0,278	дегидроабьетан
33,00	0,997	3(16),14-лабдиен-8-ол
35,28	0,282	тотарол

Для анализа использовали хроматографическую колонку ДВ-5 длиной 30 м; внутренний диаметр – 0,25 мм; газ-носитель – гелий; скорость потока – 1 мг/мин. Температуру термостата программировали от 50 до 250°C; температура инжектора – 250°C.

Компоненты эфирных масел идентифицировали по результатам сравнения полученных масс-спектров с данными библиотеки масс-спектров NIST 05-WILLEY 2007 (более 47 000 масс-спектров).

Микробиологическое исследование проводили методом серийных разведений со следующими культурами микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Candida albicans* ATCC 885653, *Pseudomonas aeruginosa* ACC 27853, *Klebsiella pneumonia* штамм №68, *Proteus vulgaris* штамм №15.

Для изучения микробиологической активности методом разведений эфирное масло кипариса разводили в соотношении 1:25; 1:50; 1:100; 1:200; 1:400; 1:800 и 1:1600. Оценку результатов осуществляли по интенсивности угнетения роста той или иной культуры с минимальной концентрацией. Посевы инкубировали в термостате при 37° в течение 18–24 часов. Попытки для определения активности образцов эфирных масел сопровождались контролями тест-культур бактерий, грибов и использованных растворителей. Одновременно контролировали качество питательных сред, их стерильность, а также рост на этих средах индикаторных тест-штаммов.

Результаты и их обсуждение

Содержание эфирного масла в пересчете на абсолютно сухое сырье в листьях кипариса вечнозеленого составляет 0,58±0,002%. Эфирное масло желто-зеленого цвета, с приятным хвойным, смолистым, камфорным запахом со следующими физико-химическими константами: плотность – 0,8738; n_D²⁰ – 1,4753; кислотное число – 0,32; эфирное число – 5,79; эфирное число после ацетилирования – 15,8.

В результате хромато-масс-спектрометрического исследования определены 46 компонентов, 40 из которых идентифицированы (табл. 1).

Хроматограмма эфирного масла кипариса представлена на рис. 1.

Установлено высокое содержание α-пинена (33,725%), Δ³-карена (13,843%), α-кедрола (8,031%).

В меньших количествах выявлены α-терпинилацетат (4,754%), терпинолен (4,436%), мирцен (4,201%), лимонен (4,181%), терпинен-4-ол (3,300%), сабинен (2,932%), гермакрен D (2,100%), β-пинен (2,013%), β-кариофиллен (1,190%), гумулен (1,305%), изопимарадиен (1,134%), борнилацетат (1,128%), γ-терпинен (1,048%). Остальные компоненты обнаружены в количествах меньше 1%. По данным специализированной литературы, пинен обладает антисептическим, противовоспалительным, бактерицидным, отхаркивающим, тонизирующим действием. Эфирное масло кипариса вечнозеленого

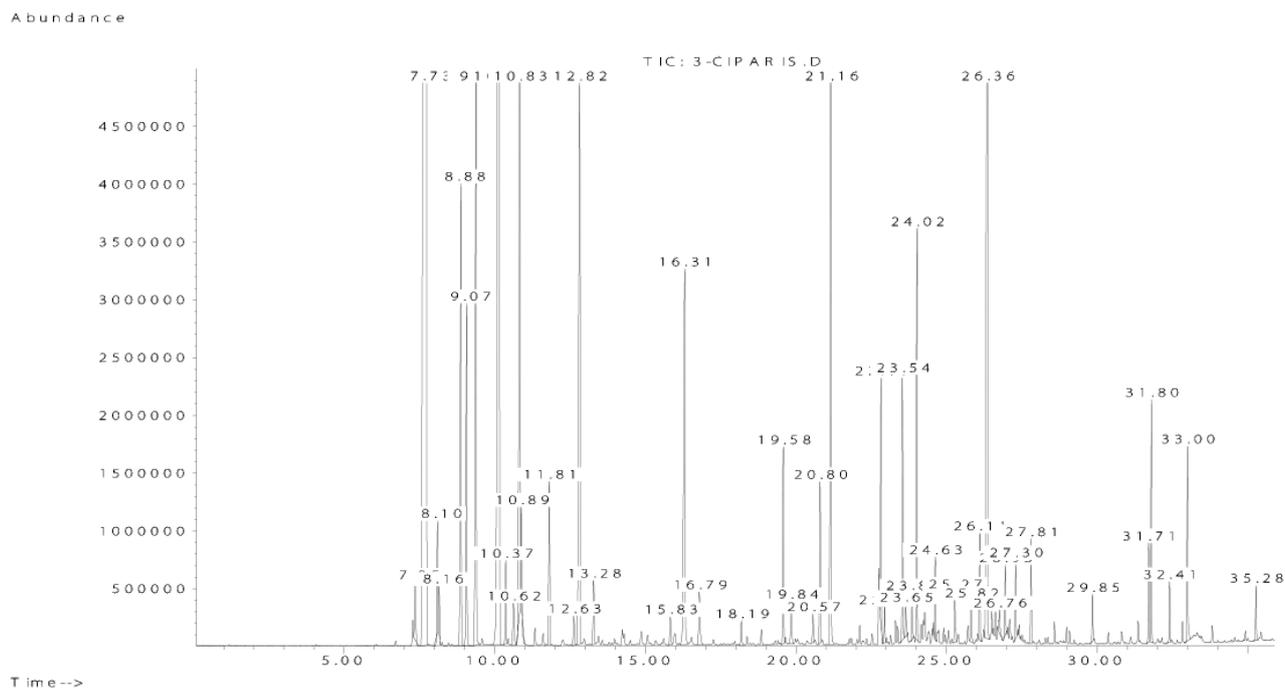


Рис. 1. Хроматограмма эфирного масла кипариса вечнозеленого.

– перспективное растительное сырье для получения антимикробных средств.

Эфирное масло кипариса исследовали на антимикробную активность.

При сравнении действия эфирного масла на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы определена их более выраженная чувствительность по сравнению с настоями.

Для проверки степени активности эфирного масла использовали метод серийных разведений в жидкой питательной среде. Все образцы эфирного масла кипариса вечнозеленого проявляют выраженную антимикробную активность. Минимальная угнетающая концентрация колеблется от 1:25 до 1:800 в зависимости от образца индикаторного тест-штамма микроорганизмов. Эфирное масло кипариса вечнозеленого обладает широким спектром действия, угнетая рост микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* ACC 27853, *Klebsiella pneumoniae* штамм № 68, *Proteus vulgaris* штамм № 15. Одновременно эфирное масло кипариса угнетает рост грибов рода *Candida*, в отношении которых оно проявляет более высокую активность, чем на бактериях.

Наиболее выраженное антимикробное действие эфирного масла кипариса наблюдали относительно штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Большое разнообразие биологически активных веществ растений семейства кипарисовые обуславливает широкий спектр их терапевтического действия и использования в медицине. Экспериментальные данные свидетельствуют, что наибольшую антимикробную и фунгицидную активность имеют эфирные масла рас-

тений и спиртовые экстракты. По данным клинических исследований, растения семейства кипарисовые проявляют противовирусный, антипролиферативный, антибластомный и иммуномодулирующий эффекты.

В гомеопатической медицине используют спиртовый экстракт однолетних, не одревесневших ветвей, собранных в начале цветения. Эту эссенцию готовили для приготовления суппозиториев под условным названием «Гиневит-2». Суппозитории с гомеопатической эссенцией кипариса вечнозеленого готовили согласно руководству по описанию и изготовлению гомеопатических лекарств.

Клинически применяли в группе 45 женщин 19–45 лет. Нозологические формы, при которых применяли суппозитории с гомеопатической эссенцией кипариса: хронические и острые кольпиты (100%), острые цервициты (38%), хронические цервициты (56%), хронические цервициты с пролиферацией (23%), хронические цервициты с дисплазией цилиндрического и многослойного плоского эпителия (от легкой до тяжелой степени CIN 1 – CIN 3) (21%), полипоз или микрополипоз цервикального канала (9%).

Наличие вирусной инфекции по данным цитологического обследования диагностировано в 85% случаев, что подтверждено результатами иммунологического обследования (герпесвирусная и цитомегаловирусная) инфекция, признаки папилломавирусной инфекции (подтверждено данными ПЦР-обследования). Всем пациентам с бактериальным вагинозом проводили микробиологические исследования на флору и чувствительность к антибиотикам. По данным бактериологического исследования определены следующие штаммы бактерий:

Klebsiella pneumoniae > 10⁷ КОЕ в 1мл
Eshcherichia coli >10⁴–10⁷ КОЕ в 1мл
Eshcherichia coli (геМ*) >10⁸ КОЕ в 1мл
Klebsiella oxytoxa > 10⁴ КОЕ в 1мл
Staphylococcus aureus 5*10⁵– 10⁷ КОЕ в 1мл
Staphylococcus epidermidis >10⁷ КОЕ в 1мл
Enterococcus faecalis >(геМ*) 10⁷ КОЕ в 1мл
Ureaplasma urealiticum >10⁴ КЩУ в 1 мл
Streptococcus agalactica >(В) 10⁶ КОЕ в 1 мл
Streptococcus mitis > 10⁷ КОЕ в 1 мл
Candida albicans >10⁷ КОЕ в 1 мл
Pseudomonas aeruginosa >10⁴ КОЕ в 1 мл
Pseudomonas spiralis >10⁴ КОЕ в 1 мл
Gardnerella vaginalis >10⁵ КОЕ в 1 мл

Указанные возбудители оказались чувствительны к группе антибиотиков в основном цефалоспоринового, нитрофуранового, фторхинолонового ряда, азитромицину, клиндамицину, флюконазолу, нистатину, клотримазолу.

Свечи с эссенцией кипариса выбраны в качестве монотерапии для санации влагалища, учитывая наличие особенностей лабораторных и клинических данных практически во всех случаях: микст-инфекции (бактериально-вирусно-кандидозная), этиологии

воспалительных процессов, длительность течения заболеваний, пролиферации и дисплазии эпителия. Курс лечения обычно составлял 10–12 дней.

По результатам клинического исследования, что подтверждено лабораторными данными, во всех случаях отмечена санация влагалища с сохранением естественной микрофлоры влагалища, регресс пролиферации и дисплазии эпителия шейки матки.

Выводы

В результате хромато-масс-спектрометрического исследования идентифицированы 40 компонентов. Установлено высокое содержание α-пинена (33,725%), Δ³-карена (13,843%), α-кедролола (8,031%).

Наиболее выраженное антимикробное действие эфирного масла кипариса отмечено на штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Клинические исследования гомеопатических препаратов из кипариса вечнозеленого подтвердили широкий спектр их антимикробной активности.

Растения семейства кипарисовые требуют дальнейшего углубленного изучения и могут быть источником новых лекарственных средств, а также имеют перспективы более широкого применения в медицине.

Список литературы

1. Державна Фармакопея України: 1-е вид. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – Доповнення 2. – 620 с.
2. Дикорастущие и культивируемые растения, их диагностика и применение: Справочник / Под ред. Л.М. Городнянской. – Х.: Б.И., 1991. – 428 с.
3. Дикорастущие полезные растения Крыма / Под ред. Рубцова Н.И. – Ялта: 1971. – 278 с.
4. Дудченко Л.Г. Застосування рослин класу хвойні в медицині. Родини тисові, кипарисові / Дудченко Л.Г., Грабова Т.Ю. // Фітотерапія. Часопис. – №1. – 2011. – С. 64–68.
5. Дудченко Л.Г. Значення ароматерапії у реабілітації та профілактиці / Л.Г. Дудченко, Т.П. Гарник // Фітотер. в реабіліт. хворих. Зб. тез наук.-практ. конф., 14 жовтня 2003. – С. 31.
6. Кьюсев А.П. Полный справочник лекарственных растений / Кьюсев П.А. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 992 с.
7. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Під ред. А.М. Гродзинського. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1991. – 544 с.
8. Мінарченко В.М. Лікарські судинні рослини України (медичне та ресурсне значення) / В.М. Мінарченко. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 394 с.
9. Селлар В. Энциклопедия эфирных масел / Селлар В. – М.: Гранд-Фаир, 2005. – 394 с.
10. Чекман І.С. Клінічна фітотерапія / Чекман І.С. – К.: Вид-во Рада, 2005. – 510 с.
11. Fischer-Rizzi Suzanne. Complete aromatherapy handbook. Essential oils for radiant-health / Fischer-Rizzi Suzanne. – NY: Stearling publ. Co. Inc. 1990. – 240 p.

Сведения об авторах:

Красных Е.А., к. мед. н., главный врач медицинского центра «Аура».
Мозуль В.И., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозии ЗГМУ.
Доля В.С., д. фарм. н., профессор каф. фармакогнозии ЗГМУ.
Очкасова Е.Н., бактериолог бактериологической лаборатории ЗОКБ.

Надійшла в редакцію 09.08.2012 р.