

УДК 616.322: 547.97+543.544

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВЕЩЕСТВ ЛИСТЬЕВ ТОЛОКНЯНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ

© В.А. Куркин*, Т.К. Рязанова, А.В. Жестков, А.В. Лямин, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина,
О.Е. Правдивцева, А.И. Агапов

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89,
Самара, 443099 (Россия), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

Целью данной работы является выделение индивидуальных соединений, обуславливающих антибактериальную активность листьев толокнянки обыкновенной [*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.].

Листья толокнянки обыкновенной, заготовленные в Пермском крае, экстрагировали 70% этиловым спиртом, полученное водно-спиртовое извлечение подвергали упариванию в вакууме.

С помощью хроматографических методов с использованием силикагеля L 40/100 и элюентных смесей (смесь хлороформа и спирта этилового в различных соотношениях) из упаренного водно-спиртового экстракта листьев толокнянки обыкновенной наряду с арбутином (β -D-глюкопиранозид гидрохинона) выделено вещество с антибактериальной активностью – этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты, который является новым природным соединением. Химическое строение этилового эфира *n*-дигалловой кислоты и арбутина установлено с использованием данных ¹H-ЯМР-спектроскопии, УФ-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Впервые выявлена антибактериальная активность этилового эфира *n*-дигалловой кислоты в отношении тестовых культур грамположительных бактерий *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*, грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. По антибактериальной активности арбутин уступал не только этиловому эфиру *n*-дигалловой кислоты, но и отвару из листьев толокнянки обыкновенной.

Следовательно, этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты является одним из основных компонентов, вносящих вклад в антибактериальную активность отвара и других препаратов листьев толокнянки обыкновенной.

Ключевые слова: *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., толокнянка обыкновенная, листья, этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты, арбутин, антибактериальная активность.

Введение

Растения являются одним из важнейших источников биологически активных соединений (БАС), находящихся широкое применение в медицине и обладающих разнообразной фармакологической активностью [1, 2]. К таким источникам БАС можно отнести толокнянку обыкновенную [*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., сем. Вересковые – *Ericaceae*], которая является фармакопейным растением во многих странах мира (Российская Федерация, США, Германия, Франция и др.) [3–5]. Листья толокнянки обыкновенной [*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.] содержат в качестве биологически активных соединений простые фенолы (арбутин, гидрохинон), а также другие вещества, которые обуславливают противовоспалительные и диуретические свойства [1, 6–11].

Листья толокнянки обыкновенной широко используются в качестве антисептического, противовос-

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru
Рязанова Татьяна Константиновна – кандидат фармацевтических наук, заведующий лабораторией санитарно-химических методов исследования НИИ гигиены и экологии человека, e-mail: ryazantatyana@mail.ru

палительного, диуретического средства для лечения инфекционных заболеваний мочевыводящих путей [1, 2, 6]. Антибактериальное действие препаратов из листьев толокнянки в отношении многих видов микроорганизмов (*Staphylococcus aureus* SG 511, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes* и др.) подтверждено во многих исследованиях [2].

Окончание на С. 54.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Химический состав листьев толокнянки обыкновенной представлен такими группами веществ, как простые фенолы (арбутин, гидрохинон), фенолкарбоновые кислоты (галловая кислота и ее производные), фенилпропаноиды (кофейная кислота и другие гидроксикоричные кислоты), флавоноиды (гиперозид и др.), дубильные вещества (танины), монотерпены, сапонины (олеаноловая кислота и др.), полисахариды [1, 6–11].

Несмотря на достаточно высокую степень изученности химического состава листьев толокнянки обыкновенной [1, 6–11], поиск новых действующих веществ в сырье данного растения по-прежнему является актуальным. Считается, что антибактериальный и диуретический эффекты препаратов толокнянки обыкновенной обусловлены арбутином, в первую очередь продуктом его гидролиза гидрохиноном [2, 12, 13]. Ранее уже было показано, что фенольные соединения могут оказывать различное действие на выделительную функцию почек [14], а также проведена работа по разработке методик стандартизации арбутинсодержащего лекарственного растительного сырья [15–17].

Цель данной работы – выделение индивидуальных соединений, обуславливающих антибактериальную активность листьев толокнянки обыкновенной для получения фармацевтических субстанций с более высокой активностью.

Экспериментальная часть

100 г воздушно-сухих листьев толокнянки обыкновенной, заготовленных в августе 2016 г. в Пермском крае, экстрагировали 70% этиловым спиртом, осуществляя вначале две экстракции при комнатной температуре в течение 24 ч, а затем при нагревании на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Объединенное водно-спиртовое извлечение упаривали под вакуумом до объема 50 мл, смешивали с 30 г силикагеля L 40/100 и высушивали. Высушенный порошок (сухой экстракт + силикагель) наносили на слой силикагеля (диаметр – 8 см, высота – 5 см), сформированный в виде взвеси в хлороформе. Хроматографическую колонку элюировали хлороформом и смесью хлороформ-этанол в различных соотношениях (99 : 1; 98 : 2; 97 : 3; 95 : 5; 93 : 7; 90 : 10; 85 : 15; 80 : 20; 70 : 30; 60 : 40; 50 : 50; 40 : 60; 30 : 70). Контроль за разделением веществ осуществляли с помощью ТСХ-анализа на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ» в системах хлороформ-этанол (9 : 1), хлороформ-этанол-вода (26 : 16 : 3), а также *n*-бутанол-ледяная уксусная кислота-вода (4 : 1 : 2). Детекцию веществ осуществляли просмотром хроматограмм в УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм, а также проявлением щелочным раствором диазобензолсульфокислоты.

Спектры ЯМР ^1H получали на приборах «Bruker AM 300» (300 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре «Kratos MS-30», регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра «Specord 40» (Analytik Jena).

Из фракций (24–26), полученных при элюировании смесью растворителей хлороформ-спирт этиловый 95% (93 : 7), получили вещество **1**, представляющее собой кристаллы белого цвета с сероватым оттенком состава $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_9$. УФ-спектр (λ_{max} EtOH, нм): 220, 276 нм. Масс-спектр (ESI-MS, 180 °C, m/z): M^+ 221

Жестков Александр Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, e-mail: info@samsmu.ru

Лямин Артем Викторович – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, e-mail: info@samsmu.ru

Авдеева Елена Владимировна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: avdeeva.ev@gmail.com

Куркина Анна Владимировна – доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: kurkina-av@yandex.ru

Правдивцева Ольга Евгеньевна – доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, e-mail: pravdivtseva@mail.ru

Агапов Альберт Иванович – доктор биологических наук, профессор кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии, e-mail: info@samsmu.ru

$[\text{M}^+$ этилгаллата + $\text{Na}]^+$, 199 $[\text{M}^+$ этилгаллата + $\text{H}]^+$, 171 $[\text{M}^+$ галловой кислоты + $\text{H}]^+$. ^1H -ЯМР-спектр (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 9.23 (уш. с, 3H трех фенольных групп галловой кислоты), 8.90 (уш. с, 1H фенольной группы галловой кислоты), 8.61 (уш. с, 1H фенольной группы галловой кислоты), 6.94 (с, 2H, H-2¹ и H-6¹), 6.54 (с, 2H, H-2 и H-6), 4.19 (кв., 2H, 7 Гц, CH_2), 1.25 (т, 3H, 7 Гц CH_3).

Из фракций (82–88), полученных при элюировании смесью растворителей хлороформ-спирт этиловый 95% (80 : 20) и (75 : 25), было выделено вещество **2**, представляющее собой игольчатые кристаллы белого цвета состава $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_7$ с т.пл. 197–199 °C (хлороформ-спирт). Масс-спектр (ESI-MS, 180 °C, m/z): M^+ 295 $[\text{M}^+$ 272 + $\text{Na}]^+$. УФ-спектр (λ_{max} EtOH, нм): 230, 282 нм. ^1H -ЯМР-спектр (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м.д., J/Гц): 9.02 (с, 1H, фенольная OH-

группа), 6.85 (д, 2H, 9 Гц, протоны при С-2 и С-6), 6.64 (д, 2H, 9 Гц, протоны при С-3 и С-5), 5.25 (д, 7 Гц, H-1¹ глюкозы), 3.30-5.05 (м, 6H глюкозы).

Исследование антибактериальной и противогрибковой активности этилового эфира *n*-дигалловой кислоты проводили в условиях *in vitro* в сравнении с арбутином и отваром из листьев толокнянки. Использовали отвар толокнянки обыкновенной (1 : 10), водный раствор арбутина (1 мг/мл), спиртовой раствор этилового эфира *n*-дигалловой кислоты (1 мг/мл) и спирт этиловый 95%. Определение минимальной ингибирующей концентрации проводили методом двойных серийных разведений в бульоне Мюллера–Хинтона в соответствии с МУ 4.2.1890-04 [18].

В качестве тестовых культур использовали грамположительные бактерии *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*, грамотрицательные бактерии *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*, дрожжеподобный гриб *Candida albicans*.

Полученные результаты обрабатывали с использованием статистических методов с помощью пакета прикладных статистических программ STATISTICA, v. 5.0, а также с помощью Microsoft Excel 2007 в составе пакета программ Microsoft Office 2007.

Обсуждение результатов

В ¹H-ЯМР-спектре соединения **1** (рис. 1) при 6.94 м.д. (H-2¹, H-6¹) и 6.54 м.д. (H-2 и H-6) обнаружены два двухпротонных синглетных сигнала, принадлежащих фрагменту дигалловой кислоты. Синглетный характер сигналов протонов дигалловой кислоты свидетельствует о том, что депсид имеет строение *n*-дигалловой кислоты. В случае *m*-дигалловой кислоты сигналы протонов при С-2 и С-6 обнаруживались бы в форме дублетных сигналов. Кроме того, в ¹H-ЯМР-спектре соединения **1** (рис. 1) присутствуют сигналы протонов этильного остатка (4.19 м.д., кв., 2H, 7 Гц, -O-CH₂-; 1.25 м.д., т, 3H, 7 Гц, -CH₃), что свидетельствует об этерификации карбоксильной группы при С-1 фрагмента галловой кислоты. Наличие в молекуле соединения **1** фрагмента этилгаллата подтверждается данными масс-спектра (рис. 2), котором присутствует базовый пик иона с *m/z* 221 [M⁺ этилгаллата + Na]⁺, 199 [M⁺ этилгаллата + H]⁺. Таким образом, вещество **1** имеет структуру этилового эфира *n*-дигалловой кислоты и является новым природным соединением (рис. 3).

Данные масс-спектрологии, ¹H-ЯМР-спектрологии (рис. 4), масс-спектрометрии (рис. 5) и УФ-спектрологии позволили также идентифицировать соединение **2** как арбутин (1-О-β-D-глюкопиранозид гидрохинона) (рис. 3). При этом следует отметить, что в литературе нами обнаружена некоторая противоречивость данных ¹H-ЯМР-спектрологии арбутина [19–21], касающаяся величины химического сдвига аномерного протона глюкозы (H-1¹). В ¹H-ЯМР соединения **2** (рис. 4) нами обнаружен дублетный сигнал с константой спин-спинового взаимодействия 7 Гц при 5.25 м.д., что характерно для глюкозидов, в которых гликозилирование происходит по фенольному гидроксилу. Однако в некоторых работах величина химического сдвига аномерного протона глюкозы составляет около 4.60–4.80 м.д., что, как правило, наблюдается в случае присоединения глюкозы к спиртовому гидроксилу. Этот факт заслуживает внимания и, на наш взгляд, требует отдельного изучения.

В условиях эксперимента арбутин был неактивным в отношении практически всех исследуемых штаммов, за исключением *Bacillus cereus* (рост наблюдался после разведения в 8 раз) (табл.). Антибактериальная активность спиртового раствора этилового эфира *n*-дигалловой кислоты в отношении *Bacillus cereus* сохранялась при разведении в 32 раза (спирт этиловый 95% – в 8 раз), *Staphylococcus aureus* – в 16 раз (спирт этиловый 95% – в 4 раза), *Pseudomonas aeruginosa* – в 16 раз (спирт этиловый 95% – в 4 раза), *E. coli* – 32 раза (спирт этиловый 95% – в 8 раз). Отвар из листьев толокнянки обыкновенной также показывал высокую активность в отношении грамположительных бактерий *Bacillus cereus* (максимальная кратность разведения, при которой сохранялось подавление роста, – 1 : 64) и *Staphylococcus aureus* (максимальная кратность разведения – 1 : 128), а также проявлял антибактериальную активность в отношении грамотрицательных микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* (максимальная кратность разведения – 1 : 32). Интересно, что и этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты, и отвар толокнянки проявляли активность в отношении дрожжеподобных грибов *Candida albicans* (максимальная кратность разведения раствора этилового эфира *n*-дигалловой кислоты 1 : 128 (спирт этиловый 95% сохранял активность при разведении в 8 раз); максимальная кратность разведения отвара толокнянки 1 : 128). Таким образом, этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты, выделенный из листьев толокнянки обыкновенной, в условиях *in vitro* показывал более высокую

активность по сравнению с арбутином. При этом важно подчеркнуть, что в литературе имеются сведения об антимикробной активности галловой кислоты и ее производных [22, 23], а также сообщается, что данные вещества обладают антиоксидантной, противораковой, противовирусной активностью [24–28].

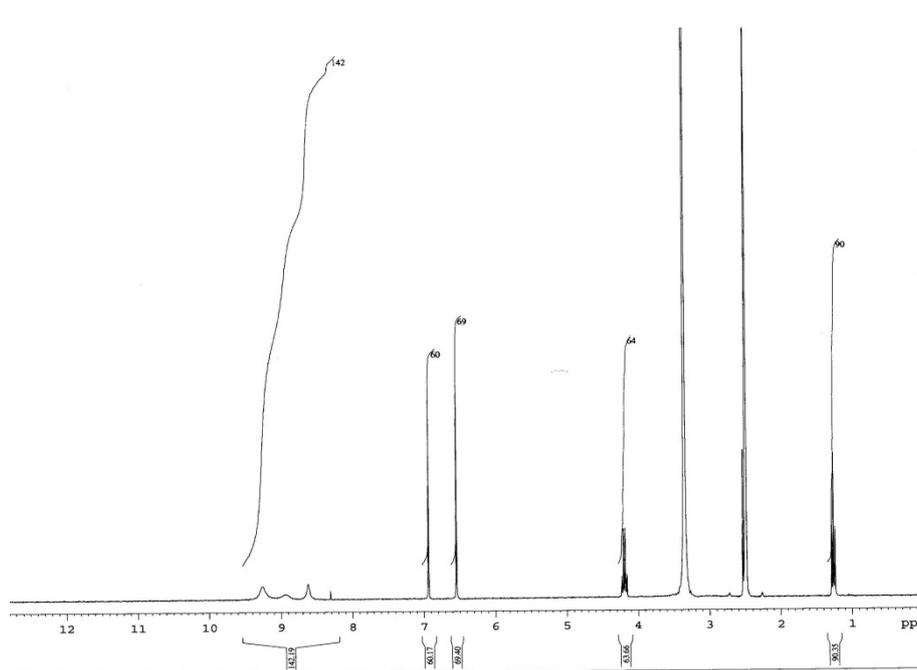


Рис. 1. ^1H -ЯМР-спектр этилового эфира *n*-дигалловой кислоты в DMSO-d_6

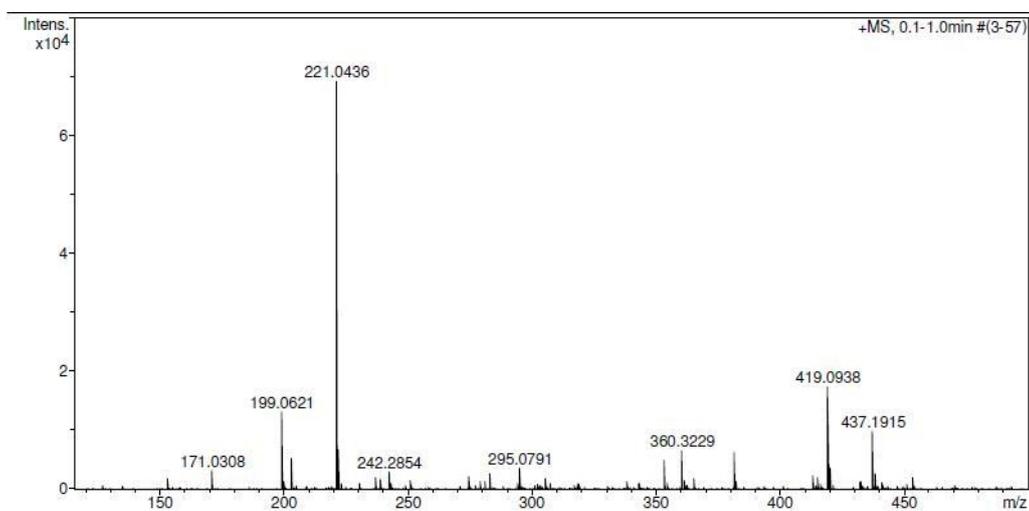


Рис. 2. ESI-Масс-спектр этилового эфира *n*-дигалловой кислоты

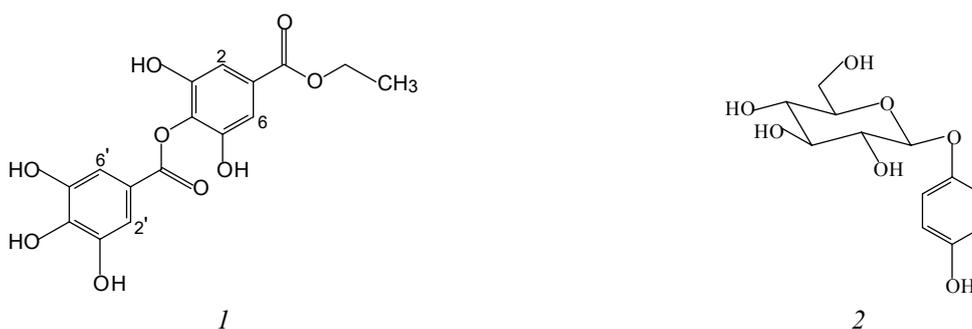


Рис. 3. Структурные формулы этилового эфира *n*-дигалловой кислоты (1) и арбутина (2)

Окончание таблицы

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Bacillus cereus</i>								
Этиловый эфир <i>n</i> -дигалловой кислоты	–	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 95%	–	–	–	+	+	+	+	+
Арбутин	–	–	–	+	+	+	+	+
Отвар из листьев толокнянки 1 : 10	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>								
Этиловый эфир <i>n</i> -дигалловой кислоты	–	–	–	–	+	+	+	+
Арбутин	+	+	+	+	+	+	+	+
Отвар из листьев толокнянки 1 : 10	–	–	–	–	–	+	+	+
Этиловый спирт 95%	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i>								
Этиловый эфир <i>n</i> -дигалловой кислоты	–	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 95% кислоты)	–	–	+	+	+	+	+	+
Арбутин	+	+	+	+	+	+	+	+
Отвар из листьев толокнянки 1 : 10	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>								
Этиловый эфир <i>n</i> -дигалловой кислоты	–	–	–	–	–	–	–	+
Этиловый спирт 95%	–	–	–	+	+	+	+	+
Арбутин	+	+	+	+	+	+	+	+
Отвар из листьев толокнянки 1 : 10	–	–	–	–	–	–	–	+

* Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таким образом, из листьев толокнянки выделен этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты, являющийся новым природным соединением, для которого в условиях *in vitro* обнаружена антибактериальная активность в отношении тестовых культур грамположительных бактерий *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*, грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*, которая сохранялась при разведении исходного раствора (1 мг/л) в 32, 16, 32 и 16 раз соответственно. Следовательно, этиловый эфир *n*-дигалловой кислоты является одним из основных компонентов, вносящих вклад в антибактериальную активность отвара и других препаратов листьев толокнянки обыкновенной.

Список литературы

1. Куркин В.А. Фармакогнозия. Самара, 2016. 1279 с.
2. ЕМА/НМРС/573462/2009 Rev.1 Assessment report on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., folium s. European Medicines Agency, 2012. 34 p.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. М., 1990. 400 с.
4. Ph. Eur. 2012: European Pharmacopoeia, 8th edition. Strasbourg, 2012. Pp. 1162–1163.
5. Uva Ursi Leaf (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng). Standards of analysis, quality control, and therapeutic // American Herbal Pharmacopoeia. 2008.
6. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 2. Семейства Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae / отв. ред. А.В. Буданцев. СПб.; М., 2009. С. 24–26.
7. Olennikov D.N., Chekhirova G.V. 6^{''}-Galloylpicein and other phenolic compounds from *Arctostaphylos uva-ursi* // Chemistry of Natural Compounds. 2013. Vol. 49. N1. Pp. 1–7.
8. Olennikov D.N., Nazarova A.V. Polysaccharides from *Arctostaphylos uva-ursi* // Chemistry of Natural Compounds. 2009. Vol. 45. N5. Pp. 702–704.
9. Pegg R.B., Rybarczyk A., Amarowicz R. Chromatographic separation of tannin fractions from a bearberry-leaf (*Arctostaphylos uva-ursi* L. Sprengel) extract by SE-HPLC – a shot report // Pol. J. Food Nutr. Sci. 2008. Vol. 58. N4. Pp. 485–490.
10. Radulović N., Blagojević P., Palić R. Comparative Study of the Leaf Volatiles of *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng. and *Vaccinium vitis-idaea* L. (Ericaceae) // Molecules. 2010. N15. Pp 6168–6185.
11. Panusa A., Petrucci R., Marrosu G., Multari G., Gallo F.R. UHPLC-PDA-ESI-TOF/MS metabolic profiling of *Arctostaphylos pungens* and *Arctostaphylos uva-ursi*. A comparative study of phenolic compounds from leaf methanolic extracts // Phytochemistry. 2015. Vol. 115. N1. Pp. 79–88.
12. Волобой Н.Л., Бутакова Л.Ю., Смирнов И.В. Изучение антимикробного действия арбутина и гидрохинона в отношении некоторых представителей грамотрицательной флоры // Химия растительного сырья. 2013. №1. С. 179–182.

13. Волобой Н.Л., Смирнов И.В., Бондарев А.А. Особенности мочегонной активности арбутина и гидрохинона // Сибирский медицинский журнал. 2012. Т. 27. №3. С. 131–134.
14. Рязанова Т.К., Зайцева Е.Н. Изучение диуретической активности препаратов плодов черники обыкновенной // Аспирантский вестник Поволжья. 2014. №1–2. С. 249–251.
15. Куркин В.А., Рязанова Т.К., Платонов И.А., Павлова Л.В. Количественное определение арбутина в листьях толокнянки обыкновенной // Химия растительного сырья. 2015. №1. С. 95–100.
16. Куркин В.А., Рязанова Т.К., Платонов И.А., Павлова Л.В. Определение арбутина в листьях брусники обыкновенной // Химико-фармацевтический журнал. 2017. Т. 51. №4. С. 34–37.
17. Моисеев Д.В. Кинетики реакции деструкции арбутина в листьях брусники обыкновенной при хранении в естественных и стрессовых условиях // Краткий научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2013. №2. С. 106–111.
18. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. М., 2004. 91 с.
19. Сепанец I., Litvić M. Simple and efficient synthesis of arbutin // ARKIVOC. 2008. Vol. ii. Pp. 19–24.
20. Kwiecień I., Szopa A., Madej K., Ekiert H. Arbutin production *via* biotransformation of hydroquinone in *in vitro* cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott // Acta Bionica Polonica. 2013. Vol. 60. N4. Pp. 865–870.
21. Das N.M., Mohan R., Parthipan B.P. Isolation, Purification and Characterization of Arbutin from *Cleidion nitidum* (Muell. – Arg.) Thw. ex Kurz. (Euphorbiaceae) // International Journal of Science and Research. 2016. Vol. 5. N1. Pp. 1549–1554.
22. Al-Zahrani S.H.M. Antibacterial activities of gallic acid and gallic acid methyl ester on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Journal of American Science. 2012. Vol. 8. N2. Pp. 7–12.
23. Vučić D.M., Petković M.R., Rodić-Grabovac B.B., Vasić S.M., Čomić L.R. *In vitro* efficacy of extract of *Arctostaphylos uva-ursi* L. on clinical isolated *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* strains // Kragujevac J. Sci. 2013. N35. Pp. 107–113.
24. Sharma M., Gupta A.K., Mukherji A. Invasive *Acacia nilotica* a problematic weed is a source of potent methyl gallate // International Journal of Science and Research. 2014. Vol. 3. N10. Pp. 1193–1195.
25. Odontuya G. Anti-oxidative, acetylcholinesterase and pancreatic lipase inhibitory activities of compounds from *Dasiphora fruticosa*, *Myricaria alopecuroides* and *Sedum hybridum* // Mongolian Journal of Chemistry. 2016. Vol. 17. N43. Pp. 42–49.
26. Chauhan R., Rubyk K., Dwivedi J. Secondary metabolites found in *Bergenia species*: a compendious review // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2013. Vol. 5. N1. Pp. 9–16.
27. Sohretoglu D., Sakar M.K., Sabuncuoglu S.A., Ozgunes H., Sterner O. Polyphenolic constituents and antioxidant potential of *Geranium stepporum* Davis // Rec. Nat. Prod. 2011. Vol. 5. N1. Pp. 22–28.
28. Guldbrandsen N., De Mieri M., Gupta M., Liakou E., Pratsinis H., Kletsas D., Chaita E., Aligiannis N., Skaktrounis A.-L., Hamburger M. Screening of Panamanian plants for cosmetic properties, and HPLC-based identification of constituents with antioxidant and UV-B protecting activities // Scientia Pharmaceutica. 2015. N83. Pp. 177–190.

Поступило в редакцию 21 декабря 2017 г.

После переработки 2 февраля 2018 г.

Для цитирования: Куркин В.А., Рязанова Т.К., Жестков А.В., Лямин А.В., Авдеева Е.В., Куркина А.В., Правдивцева О.Е., Агапов А.И. Антимикробная активность веществ листьев толокнянки обыкновенной // Химия растительного сырья. 2018. №3. С. 53–60. DOI: 10.14258/jcprtm.2018033542.

Kurkin V.A.^{*}, Ryazanova T.K., Zhestkov A.V., Lyamin A.V., Avdeeva E.V., Kurkina A.V., Pravdivtseva O.E., Agapov A.I.
 THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF COMPOUNDS FROM LEAVES OF *ARCTOSTAPHYLOS UVA-URSI*

Samara State Medical University, ul. Chapayevskaya, 89, Samara, 443099 (Russia), e-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

The aim of this paper is the isolation of individual compounds, which are caused the antibacterial activity of the leaves of the bearberry [*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng.]. The leaves of *Arctostaphylos uva-ursi*, collected in Perm region, there were extracted with 70% ethanol, the obtained water-alcoholic infusion there was evaporated in vacuum.

By means of the chromatographic methods with the using of silica gel 40/100 and eluent systems (chloroform and ethanol in several ratio) from the evaporated water-alcoholic extract of the leaves of *Arctostaphylos uva-ursi*, a substance with antibacterial activity, ethyl ester of *p*-digallic acid, which is a new natural compound, was isolated along with arbutin ((1-O-β-D-glucopyranoside of hydroquinone) from the leaves of this plant. The chemical structures of the ethyl ester of *p*-digallic acid and arbutin were established with the using of data of ¹H-NMR-spectroscopy, UV-spectroscopy and mass-spectrometry.

The antibacterial activity of ethyl ester of *p*-digallic acid against test cultures of gram-positive bacteria *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*, gram-negative bacteria *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* for the first time was determined. By antibacterial activity, arbutin was inferior not only to ethyl ester of *p*-digallic acid, but also to decoction from the leaves of the bearberry. Consequently, the ethyl ester of *p*-digallic acid is one in main component, which is take the contribution in the antibacterial activity of the decoction and other preparations of the leaves of *Arctostaphylos uva-ursi*.

Keywords: *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., bearberry, leaves, ethyl ester of *p*-digallic acid, arbutin, antibacterial activity.

References

1. Kurkin V.A. *Farmakognoziia*. [Pharmacognosy]. Samara, 2016, 1279 p. (in Russ.).
2. EMA/HMPC/573462/2009 Rev.1 Assessment report on *Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng., *folium*. European Medicines Agency, 2012, 34 p.
3. *Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR: Vyp. 2. Obshchie metody analiza. Lekarstvennoe rastitel'noe syr'e*. [State Pharmacopoeia of the USSR: Vol. 2. General methods of analysis. Medicinal plant raw materials]. Moskva, 1990, 400 p. (in Russ.).
4. *Ph. Eur. 2012: European Pharmacopoeia, 8th edition*, Strasbourg, 2012, pp. 1162–1163.
5. Uva Ursi Leaf (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.) Spreng). Standards of analysis, quality control, and therapeutic // American Herbal Pharmacopoeia, 2008.
6. *Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushchie tsvetkovye rasteniia, ikh komponentnyi sostav i biologicheskaiia aktivnost'. T. 2. Semeistva Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae* [Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity. Vol. 2. Families Actinidiaceae – Malvaceae, Euphorbiaceae – Haloragaceae], ed. A.V. Budantsev. St. Petersburg; Moscow, 2009, pp. 24–26. (in Russ.).
7. Olennikov D.N., Chekhirova G.V. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, vol. 49, no. 1, pp. 1–7.
8. Olennikov D.N., Nazarova A.V. *Chemistry of Natural Compounds*, 2009, vol. 45, no. 5, pp. 702–704.
9. Pegg R.B., Rybarczyk A., Amarowicz R. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2008, vol. 58, no. 4, pp. 485–490.
10. Radulović N., Blagojević P., Palić R. *Molecules*, 2010, no. 15, pp 6168–6185.
11. Panusa A., Petrucci R., Marrosu G., Multari G., Gallo F.R. *Phytochemistry*, 2015, vol. 115, no. 1, pp. 79–88.
12. Voloboi N.L., Butakova L.Iu., Smirnov I.V. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2013, no. 1, pp. 179–182. (in Russ.).
13. Voloboi N.L., Smirnov I.V., Bondarev A.A. *Sibirskii meditsinskii zhurnal*, 2012, vol. 27, no. 3, pp. 131–134. (in Russ.).
14. Riazanova T.K., Zaitseva E.N. *Aspirantskii vestnik Povolzh'ia*, 2014, no. 1–2, pp. 249–251. (in Russ.).
15. Kurkin V.A., Riazanova T.K., Platonov I.A., Pavlova L.V. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2015, no. 1, pp. 95–100. (in Russ.).
16. Kurkin V.A., Riazanova T.K., Platonov I.A., Pavlova L.V. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*, 2017, vol. 51, no. 4, pp. 34–37. (in Russ.).
17. Moiseev D.V. *Kratkii nauchno-prakticheskii vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*, 2013, no. 2, pp. 106–111. (in Russ.).
18. *MUK 4.2.1890-04. Opreделение chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam. Meto-dicheskie ukazaniia*. [MUK 4.2.1890-04. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Methodical instructions]. Moscow, 2004, 91 p. (in Russ.).
19. Cepanec I., Litvić M. *ARKIVOC*, 2008, vol. ii, pp. 19–24.
20. Kwiecień I., Szopa A., Madej K., Ekiert H. *Acta Bionorica Polonica*, 2013, vol. 60, no. 4, pp. 865–870.
21. Das N.M., Mohan R., Parthipan B.P. *International Journal of Science and Research*, 2016, vol. 5, no. 1, pp. 1549–1554.
22. Al-Zahrani S.H.M. *Journal of American Science*, 2012, vol. 8, no. 2, pp. 7–12.
23. Vučić D.M., Petković M.R., Rodić-Grabovac B.B., Vasić S.M., Čomić L.R. *Kragujevac J. Sci.*, 2013, no. 35, pp. 107–113.
24. Sharma M., Gupta A.K., Mukherji A. *International Journal of Science and Research*, 2014, vol. 3, no. 10, pp. 1193–1195.
25. Odontuya G. *Mongolian Journal of Chemistry*, 2016, vol. 17, no. 43, pp. 42–49.
26. Chauhan R., Rubyk K., Dwivedi J. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2013, vol. 5, no. 1, pp. 9–16.
27. Sohretoglu D., Sakar M.K., Sabuncuoglu S.A., Ozgunes H., Sterner O. *Rec. Nat. Prod.*, 2011, vol. 5, no. 1, pp. 22–28.
28. Gulbrandsen N., De Mieri M., Gupta M., Liakou E., Pratsinis H., Kletsas D., Chaita E., Aligiannis N., Skaktrounis A.-L., Hamburger M. *Scientia Pharmaceutica*, 2015, no. 83, pp. 177–190.

Received December 21, 2017

Revised February 2, 2018

For citing: Kurkin V.A., Ryazanova T.K., Zhestkov A.V., Lyamin A.V., Avdeeva E.V., Kurkina A.V., Pravdivtseva O.E., Agapov A.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2018, no. 3, pp. 53–60. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018033542.

* Corresponding author.