

DOI:10.33617/2522-9680-2020-3-40
УДК 582.94 + 615.28 + 615.32

РОЗРОБКА АНТИБАКТЕРІАЛЬНОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ *PHLOMIS PUNGENS* WILLD. ТА НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

- ¹ С. В. Базавлук студ.-магістр. каф. технол. біолог. активн. спол., фармац. та біотехнол.
- ¹ Р. С. Ванько, студ.-магістр каф. технол. біолог. активн. спол., фармац. та біотехнол.
- ² Ю. Т. Конечний, аспір. каф. мікробіол.
- ² Р. Г. Шикуча, к. мед. н., доц. каф. мікробіол.
- ¹ Р. Т. Конечна, к. фарм. н., доц. каф. технол. біолог. активн. спол., фармац. та біотехнол.
- ¹ Національний університет «Львівська політехніка»
- ² Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Актуальність. Поширення гострої респіраторної вірусної інфекції COVID-19, викликаной вірусом SARS-CoV-2, та зумовлена цим пандемія кидає виклик сучасній медичній та фармацевтичній науці. Недостатні темпи масової вакцинації та специфічних лікувальних агентів проти коронавірусної інфекції робить вкрай актуальним питання превенції захворювання та мінімізації ризику інфікування. Гігієнічна обробка рук і поверхонь дезінфекційними засобами є одним із основних засобів для профілактики ГРВІ та запобігання і локалізації спалахів COVID-19 [8]. Згідно рекомендацій ВООЗ, для знищення складних оболонкових вірусів надається перевага наступним антисептичним засобам: спирти в концентрації 60-80% (у формі антисептика), хлоргексидин у концентрації 0,5-4% (у формі антисептика та для миття рук) та йодоформу концентрації 0,5-10% (для миття рук) [16].

Попри це, високий відсоток інфекційних ускладнень у хворих, розвиток резистентності мікроорганізмів, зниження загальної та місцевої імунологічної реактивності організму вимагають подальшого вивчення, розробки і вдосконалення як лікувальних, так і профілактичних засобів.

Phlomis pungens (укр. – залізник колючий) як рослина і як лікарська рослинна сировина є перспективним для розробки антисептичних засобів, оскільки має широкий спектр антибактеріальної, противірусної та ранозагоювальної активності. Рослинна сировина *P. pungens* багата на вміст ефірної олії, основними компонентами якої є монотерпени (α -пінен, ліналоол, D-лімонен), сесквітерпени (β -каріофілен, α -кадиол, гермакрен D, каріофілену оксид, β -фарнезен), *n*-гексадеканова кислота, гексагідрфарнезил ацетон, *trans*-фітол, 9,12,15-октадекатрієн-1-ол тощо [10, 13]. Masoudi

et al. (2006) проведено дослідження, які свідчать про те, що основними складовими ефірної олії є гермакрен D (24,5%), біциклогермакрен (14,1%), α -пінен (13,5%) та (E)- β -фарнезен (13,4%). Sarikurksu et al. (2016) повідомляють про найбільший вміст у ефірній олії гермакрону D (7,2%) та *n*-гексадеканової кислоти.

Окрім ефірної олії, комплекс біологічно активних речовин (БАР) представлений іридоїдами, флавоноїдами, фенілпропанідами, фенілетаноїдами, лігнанами, неолігнанами, терпеноїдами, алкалоїдами [15], мікро- та макроелементами (у тому числі числі біологічно активними елементами: кальцій, магній, купрум, манган, цинк, кобальт) [3].

Окрім того, у наш час безперестанно збільшується інтерес до застосування препаратів срібла як універсальних антибактеріальних засобів. Срібло ефективно проти грибків, стійких спор, широкого спектра бактерій, особливо у формі наночастинок. Варто також зазначити, що відсутні жодні відомості про мутагенні чи канцерогенні властивості срібла у вигляді наночастинок. Наприкінці 2020 р. вчені Інституту фізики НАН України повідомили про розроблений метал-водо-полімерний наноконкомпозит, з властивостями антисептика широкого спектра дії. Розробники зазначають, що механізм дії виявився дієвим щодо вірусів герпесу, гепатиту В і навіть ВІЛу, окрім того, відсутнє мутаційне пристосування мікроорганізмів до наносрібла. На думку вчених, є підстави очікувати, що наночастинок срібла мають потенціал дії щодо спіке-структур коронавірусів, значно знижуючи їхню здатність проникати до клітин людського організму [1].

Метою роботи була розробка складу та дослідження нового антисептичного засобу у формі

спрію на основі екстракту *P. pungens* та наночастинок срібла.

Матеріали та методи дослідження

Для дослідження було використано траву залізняка колючого та розчин наночастинок срібла. Розглянемо роль компонентів:

- лікарська рослинна сировина (ЛРС) *P. pungens* здавна використовується етнотерапією для лікування інфекційних захворювань, розладів серцево-судинної системи і шлунково-кишкового тракту тощо; рослина чинить протимікробну, протигрибкову, протівірусну, протизапальну, антиоксидантну, протипухлинну дію [2];
- срібло у вигляді наночастинок проявляє антибактеріальну, протівірусну, імуномодуючу та антиоксидантну активність [5-6, 9, 12].

Рослинний матеріал. Заготівлю трави залізняка колючого проводили влітку 2019 року в екологічно чистих районах центральних регіонів України. Сушіння та стандартизацію сировини здійснювали відповідно до вимог ДФУ. Екстракти *P. pungens* одержували методом мацерації, як екстрагент використовували водні розчини етанолу в концентрації 20% (екстракт РР1), 40% (екстракт РР2), 70% (екстракт РР3) та 90% (екстракт РР4).

Підбір умов екстракції. У ході дослідження здійснено підбір екстракційних умов за наступними показниками: ступінь подрібнення рослинної сировини, тип екстрагенту та його концентрації, співвідношення рослинної сировини та екстрагенту.

Загальний вміст фенольних сполук. Загальний вміст сполук фенольної природи визначали спектрофотометрично з реактивом Фоліна-Чокальтеу за методом, описаним Skotti та ін. [14] з певними модифікаціями. Оптичну густину вимірювали

при довжині хвилі 760 нм на спектрофотометрі Hitachi U-2810. Як стандарт використано галову кислоту. Виміри здійснювали тричі, результати були оброблені статистично.

Загальний вміст флавоноїдів. Загальний вміст сполук групи флавоноїдів визначали спектрофотометрично з $AlCl_3$ за методом, описаним Do та ін. [7] з певними модифікаціями. Оптичну густину вимірювали при довжині хвилі 415 нм на спектрофотометрі Hitachi U-2810. Як стандарт використано розчин кверцетину. Виміри здійснювали тричі, результати були оброблені статистично.

Антибактеріальна активність. Оцінку антимікробної дії здійснювали на стандартних штаммах мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 (F-49)), *Staphylococcus epidermidis* (191), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 (F-51)), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus licheniformis* (ВКПМ-7038), *Proteus vulgaris* (152), *Candida albicans* (ATCC 885-653 та ATCC 668-853), а також на клінічних штаммах мікроорганізмів *Escherichia coli* № 5, *Staphylococcus aureus* № 23, *Candida albicans* № 62, резистентного до ністатину, та *Candida albicans* № 67, резистентного до азолів (кетоконазол). Дослідження було проведено методом дифузії в агар, використовуючи стандартні поживні середовища (МПА, середовище Сабуро). Оцінку активності екстрактів проведено з урахуванням бактерицидної дії етанолу згідно вимог Державної фармакопеї України. Тестування проводили тричі.

Одержання наночастинок срібла. Для одержання срібла у формі наночастинок використовували $AgNO_3$ марки ч.д.а. та полівінілпіролідон високого очищення торгової марки Appli Chem GmbH з молекулярною масою $1 \dots 3 \cdot 10^4$, відновлення проводили в системі вода-ПВП- $AgNO_3$, при цьому співвідношення компонентів становило 50:10:1 відповідно [4].

Таблиця 1

Залежність повноти екстракції БАР від ступеня подрібнення ЛРС

Ступінь подрібнення сировини	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), n = 4	
	Сума поліфенолів	Сума екстрактивних речовин
> 7 мм	4,17±0,02	14,28±0,01
5-7 мм	4,31±0,01	14,06±0,03
3-5 мм	4,23±0,02	14,43±0,01
2-3 мм	4,58±0,01	14,72±0,02
1-2 мм	4,14±0,02	14,26±0,01
0,5-1 мм	4,35±0,01	14,53±0,02
0,25-0,5 мм	4,29±0,03	14,39±0,01

Залежність повноти екстракції БАР від екстрагенту

Екстрагент	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), n = 4	
	Сума поліфенолів	Сума екстрактивних речовин
Вода очищена	4,05±0,01	15,21±0,03
етанол 20%	4,26±0,02	15,54±0,01
етанол 40%	4,67±0,01	15,78±0,02
етанол 70%	4,83±0,02	15,96±0,01
етанол 90%	4,59±0,01	15,90±0,01

Результати дослідження та їх обговорення

На першому етапі дослідження проведено стандартизацію лікарської рослинної сировини за наступними показниками: вміст сторонніх домішок у досліджуваній лікарській рослинній сировині (не перевищував 2 % за масою), вміст загальної золи (становив не більше 10 %).

На другому етапі фітохімічного дослідження проведено визначення залежності повноти екстракції БАР від ступеня подрібнення трави *Phlomis pungens* Willd (результати представлено у табл. 1).

Враховуючи оптимальний ступінь подрібнення сировини (2-3 мм) одержано екстракти з використанням різних розчинників, використовуючи співвідношення між сировиною і екстрагентом 1:20. Результати кількісного вмісту екстрактивних та діючих речовин у витяжках при виборі екстрагенту наведені у табл. 2.

Оптимальним екстрагентом, відповідно до одержаних результатів, є етанол у концентрації 70 %. З метою встановлення оптимального співвідношення між сировиною (трава залізняка колючого) та екстрагентом (етанол 70 %) було

використано наступні співвідношення 1:5; 1:10; 1:20 (результати наведено в табл. 3).

У результаті проведених досліджень встановлено, що оптимальним співвідношенням між сировиною та екстрагентом є 1:20, екстрагент – етанол у концентрації 70 %, ступінь подрібнення сировини – 2-3 мм.

Проведено оцінку загального вмісту фенольних сполук і флавоноїдів. Результати дослідження оброблено статистично та представлено в табл. 4.

Виявлено протимікробну дію екстракту *P. pungens* щодо музейних штамів *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та клінічних штамів *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*. Найкращі антибактеріальні властивості згідно дослідження мають етанольні екстракти щодо музейного штаму *Bacillus subtilis* – відмічено бактерицидну дію екстрактів з використанням усіх розведень етилового спирту.

Виявлено протигрибкову дію екстрактів *P. pungens* щодо *Candida albicans* 653, *Candida albicans* 853 та клінічних штамів *Candida albicans* (nis), *Candida albicans* (ket та nis), в тому числі до полірезистентного шта-

Таблиця 3

Залежність повноти екстракції БАР від співвідношення компонентів

Співвідношення між сировиною та екстрагентом (етанол 70%)	Вміст БАР і екстрактивних речовин, %, ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), n = 4	
	Сума поліфенолів	Екстрактивні речовини
1:5	4,32±0,02	15,18±0,01
1:10	4,54±0,01	15,31±0,02
1:20	4,78±0,01	15,53±0,01

Таблиця 4

Загальний вміст фенольних сполук і флавоноїдів в екстрактах

Досліджуваний екстракт	Сума фенольних сполук (еквівалентна мг галової кислоти на мл екстракту), ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), n = 4	Сума флавоноїдів (еквівалентна мг кверцетину на мл екстракту), ($\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$), n = 4
PP1	2,6055	2,1187
PP2	3,2010	2,6604
PP3	4,1356	3,3314
PP4	4,9711	3,2503

му *Candida albicans* № 12. Найбільшу проти-грибкову дію щодо полірезистентного штаму *Candida albicans* № 12 проявив екстракт, виготовлений з використанням етанолу в концентрації 70 %.

Готова лікарська форма є гомогенною сумішшю зеленувато-коричневого кольору з характерним спиртовим запахом.

До складу спрею шляхом теоретичного обґрунтування та експериментальних досліджень була запропонована спрей-композиція, яка складається з наступних компонентів: екстракт *P. pungens*, розчин наночастинок срібла та твіну-80 як стабілізатор; підтверджено стабільність розробленої композиції та її спроможність до розпилювання.

Висновки

Проведено дослідження сировини *P. pungens* та екстрактів на її основі. Підібрано оптимальні умови екстракції комплексу БАР з трави *Phlomis pungens* Willd. Визначено вміст фенольних сполук та флавоноїдів. Вивчено антимікробну та фунгіцидну дію екстракту *Phlomis pungens* Willd.

Запропоновано склад дезінфекційного засобу на основі рослинного екстракту та наночастинок срібла, який потенційно виявляє антивірусний ефект. Актуальним є розширення фармакологічного вивчення нової лікарської форми з метою стандартизації згідно вимог ДФУ.

Литература

1. Внутрішня противірусна «маска» – шанс зупинити COVID-19 [Електронний ресурс] // Національна академія наук України – Режим доступу до ресурсу: <http://www.nas.gov.ua/UA/Messages/Pages/View.aspx?essagelD=7233>.
2. Конечний Ю.Т., Базавлук Є.В., Конечна Р.Т. [та ін.]. Залізник колючий – *Phlomis pungens* Willd. Аналітичний огляд [Jerusalem's age – *Phlomis pungens* Willd. Analytical review (Ukr)] // Фітотерапія. Часопис. – 2019. – № 1. – С. 81-85. <https://doi.org/10.33617/2522-9680-2019-1-81>.
3. Круглая А.А. Макро- и микроэлементный состав травы зонника колючего и зонника клубненосного, произрастающих на северном Кавказе [Макро- і мікроелементний состав траву зонника колючего і зонника клубненосного, произрастающих на северном Кавказе (Rus)] // Вестн. ВГУ, Серия: хим., биол., фармац. – 2006. – № 2. – С. 294-296.
4. Семенюк Н.Б., Костів У.В., Дзяман І.З. [та ін.]. Особливості одержання наночастинок срібла у присутності полівінілпіролідону [Osoblyvosti oderzhannia nanochastynok sribla u prysutnosti polivinilpirolidonu (Ukr)] // Вісн. НУЛП. Хім., технол. речов. та їх застосує. – 2014. – № 787. – С. 440-443.
5. Behravan M., Panahi A.H., Naghizadeh A. [et al]. Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity // *Int J Biol Macromol.* – 2019. – Vol. 124. – P. 148-154. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.101>.
6. Bocate K.P., Reis G.F., de Souza P.C. [et al]. Antifungal activity of silver nanoparticles and simvastatin against toxigenic species of *Aspergillus* // *Int J Food Microbiol.* – 2019. – Vol. 291. – P. 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.11.012>.
7. Do Q.D., Angkawijaya A.E., Tran-Nguyen P.L. [et al]. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica* // *J Food Drug Anal.* – 2014. – Vol. 22. – P. 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>.
8. Goldust M., Abdelmaksoud A., Navarani A.A. Handdis infection in the combat against COVID-19 // *J Eur Acad Derm Venereol.* – 2020. – Vol. 34(9). – P. 454-455. <https://doi.org/10.1111/jdv.16574>.
9. Haggag E.G., Elshamy A.M., Rabeh M.A. [et al]. Antiviral potential of green synthesized silver nanoparticles of *Lampranthus coccineus* and *Malephoralutea*. *Int J. Nanomedicine.* – 2019. – Vol. 14. – P. 6217-6229. <https://doi.org/10.2147/IJN.S214171>.
10. Kirimer N., Suleymanov T.A., Kurkcuoglu M. et al. Essential oil constituents of *Phlomis pungens* Willd. from Azerbaijan // *J Essent Oil-Bear Plants.* – 2017. – Vol. 20(6). – P. 1492-1501. <https://doi.org/10.1080/0972060x.2017.1407261>.
11. Masoudi S., Rustaiyan A., Azar P.A. et al. Composition of the essential oils of *Cyclotrichium straussii* (Bornm.) Rech. f. and *Phlomis pungens* Willd. from Iran // *J. Essent. Oil Res.* – 2006. – Vol. 18(1). – P. 16-18. <https://doi.org/10.1080/10412905.2006.9699373>.
12. Morris D., Ansar M., Speshock J. [et al]. Antiviral and Immunomodulatory Activity of Silver Nanoparticles in Experimental RSV Infection // *Viruses.* – 2019. – Vol. 11(8). – P. 732-748. <https://doi.org/10.3390/v11080732>.
13. Sarikurcu C., Uren M.C., Kocak M.C. [et al]. Chemical composition, antioxidant, and enzyme inhibitory activities of the essential oil soft hree *Phlomis* species as well as their fattyacid compositions // *Food Sci Biotechnol.* – 2016. – Vol. 25(3). – P. 687-693. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0120-9>.
14. Skotti E., Anastasaki E., Kanellou G. [et al]. Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants // *Ind Crop Prod.* – 2014. – Vol. 53. – P. 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.013>.
15. Taskın T., Cam M.E., Bulut G. [et al]. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Phlomis pungens* and *Coridothymus capitatus* // *Marmara Pharm J.* – 2018. – Vol. 22(1). – P. 80-85. <https://doi.org/10.12991/mpj.2018.44>.
16. WHO guidelines on hand hygiene in health care: a summary // Geneva: World Health Organization. – 2009. – 64 p.

Надійшла до редакції 19 жовтня 2020 р.

Прийнято до друку 27 листопада 2020 р.

Є. В. Базавлук, Р. С. Ванько, Ю. Т. Конечний,
Р. Г. Шикуча, Р. Т. Конечна

РОЗРОБКА АНТИБАКТЕРІАЛЬНОГО СПРЕЮ НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ *PHLOMIS PUNGENS* WILLD. ТА НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА

Ключові слова: *Phlomis pungens*, наночастинки срібла, спрей, антибактеріальна дія.

У статті представлено результати досліджень *Phlomis pungens* та екстрактів на його основі. Підібрано оптимальні умови одержання екстрактів та визначено кількісний вміст біологічно активних речовин у них, а саме фенольних сполук і флавоноїдів. Вивчено фармакологічну активність екстрактів рослини та наночастинок срібла. Розроблено склад та досліджено новий антисептичний засіб у формі спрею на основі екстракту *Phlomis pungens* та наночастинок срібла.

Е. В. Базавлук, Р. С. Ванько, Ю. Т. Конечный,
Р. Г. Шикуча, Р. Т. Конечна

РАЗРАБОТКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО СПРЕЯ НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА *PHLOMIS PUNGENS* WILLD. И НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА

Ключевые слова: *Phlomis pungens*, наночастицы серебра, спрей, антибактериальное действие.

В статье представлены результаты исследования *Phlomis pungens* и экстрактов на его основе. Подобраны оптимальные условия получения экстрактов и определено количественное содержание биологически активных веществ, а именно фенольных соединений и флавоноидов. Изучена фармакологическая активность экстрактов растения и наночастиц серебра. Разработан состав и исследовано новое антисептическое средство в форме спрея на основе экстракта *Phlomis pungens* и наночастиц серебра.

Ye. Bazavluk, R. Vanko, Yu. Konechnyi, R. Shykula,
R. Konechna

DEVELOPMENT OF AN ANTIBACTERIAL SPRAY BASED ON PHLOMIS PUNGENS EXTRACT AND SILVER NANOPARTICLES

Keywords: *Phlomis pungens*, silver nanoparticles, spray, antibacterial activity.

In the article the results of the study on *Phlomis pungens* and extracts of the plant are presented. The optimum conditions for obtaining the extracts were selected, the content of the biologically active substances (phenols and flavonoids) in the extracts was studied. The pharmacological activity of extracts of the plant and silver nanoparticles were examined. A new antiseptic in the form of spray based on *Phlomis pungens* extract and silver nanoparticles has been developed and studied.

Конфлікт інтересів відсутній.

Внесок авторів.

Є.В. Базавлук – написання основного тексту манускрипту, основний виконавець,

Р.С. Ванько – написання основного тексту манускрипту, переклад,

Ю.Т. Конечний – виконання мікробіологічної частини,

Р.Г. Шикуча – рецензування,

Р.Т. Конечна – куратор проекту.

Електронна адреса для листування з авторами:

Egor.bazavluk@gmail.com (Базавлук Єгор Віталійович).



DOI:10.33617/2522-9680-2020-3-44
УДК615.322:577.112.3:582.991

ВМІСТ АМІНОКИСЛОТ У СИРОВИНІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДИНИ *ASTERACEAE*

■ ¹ С. М. Марчишин, д. фарм. н., проф., зав. каф. фармакогн. з мед. бот.

¹ Л. В. Слободянюк, к. фарм. н., асист. каф. фармакогн. з мед. бот.

² Р. Ю. Басараба, к. фарм. н., асист. каф. фармації

² Н. А. Гудзь, к. фарм. н., ас. каф. фармації

² Л. В. Костишин, асист. каф. фармацевт. ботаніки та фармакогн.

■ ¹ Тернопільський Національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України.

² Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Амінокислоти (АК) є мономерами білків, які широко розповсюджені у живій природі і є основою будови організму. Усього відкрито майже 300 рослинних АК; до складу білків входять лише 20 [2].

Всі АК, які входять до складу білка, синтезуються рослинами, що відрізняє їх від білків тваринного і людського організму, в яких не всі АК синтезуються. Половину з 20 відомих АК людський організм поповнює за рахунок рослинної їжі.