

Дослідження впливу ліпофільних фракцій трави підмаренника справжнього на адгезивні властивості мікроорганізмів

О.В.Горяча, Н.В.Кашпур, А.Ю.Волянський, Т.В.Ільїна, А.М.Ковальова,
Т.П.Осолодченко

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України», лабораторія імунореабілітології,
Національний фармацевтичний університет, кафедра фармакогнозії
Харків, Україна

Досліджено ступінь впливу хлороформної та етилацетатно-спиртової фракції трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) на адгезивні властивості патогенних мікроорганізмів. Встановлено, що ліпофільні фракції проявляють виражену протиадгезивну активність по відношенню до ряду тест-штамів мікроорганізмів. Показано, що обидві фракції виявляють однаковий рівень активності по відношенню до *Escherichia coli* та *Neisseria meningitidis*. Хлороформна фракція трави *Galium verum* активніша по відношенню до *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, етилацетатно-спиртова — до *Klebsiella pneumoniae* та *Staphylococcus aureus*. Найбільшу інгібуючу активність обидві фракції показали по відношенню до *Klebsiella pneumoniae*. Хлороформна фракція, яка містить хлорофіли, терпеноїди та ароматичні сполуки у співвідношенні 10:10:4,4, проявляє на 27% вищу антиадгезивну активність по відношенню до *Proteus mirabilis*, ніж етилацетатно-спиртова, яка містить терпеноїди та ароматичні сполуки у співвідношенні 1:4,2. Результати досліджень частково пояснюють механізм антибактеріальної активності отриманих ліпофільних комплексів і окреслюють перспективу можливого застосування їх у низьких дозах з метою зниження селективних переваг клінічно значущих мікроорганізмів.

Ключові слова: підмаренник справжній, ліпофільні фракції, адгезивні властивості.

ВСТУП

Підмаренник справжній (*Galium verum* L.) — багаторічна трав'яниста рослина родини Марев-

нові (*Rubiaceae*), має широке застосування в народній медицині, зокрема як антибактеріальний засіб при ранах, наривах, виразках та опіках [4].

Раніше нами досліджувався компонентний склад ліпофільних фракцій трави підмаренника справжнього, в якому визначено біологічно активні речовини, що мають антимікробну активність [5]. Основні діючі речовини в хлороформній фракції — хлорофіли (9,24%); терпеноїди (9,35%): лоліолід (3,62%), дигідроактинідіолід (0,46%), 8-гідроксиліналоол (0,36%), неролідол (0,38%), гексагідрофарнезиллацетон (0,50%); ароматичні сполуки (4,44%): фенілацетальдегід (0,26%), 2-метокси-4-вінілфенол (0,51%), 4-((1E)-3-гідрокси-1-пропеніл)-2-метоксифенол (2,51%), етил(2E)-3-(4-гідрокси-3-метоксифеніл)-2-пропеноат (0,40%), етил-*p*-гідроксициннамат (0,76%).

В етилацетатно-спиртовій фракції антибактеріальну дію зумовлюють терпеноїди (0,82%), ароматичні сполуки (3,35%), серед яких *p*-цимен (0,96%), фенілацетальдегід (2,31%) та бензальдегід (0,09%).

Результати вивчення складу ліпофільних сполук трави підмаренника справжнього є підґрунтям для дослідження їх антибактеріальної дії та встановлення особливостей її механізму.

Однією з найбільш характерних властивостей мікроорганізмів, яка сприяє прояву патогенного потенціалу, є адгезія [1, 3]. Бактерії з наявністю патогенних властивостей, у залежності від їх мобільності, по-різному ці властивості проявляють. Від адгезії залежить склад, стабільність та захисні властивості мікрофлори організму [7]. Відомо, що бактеріальна адгезія до клітинних поверхонь може інгібуватися антибіотиками, вакцинами, розробленими з адгезинів, секреторними імуноглобулінами або

ТАБЛИЦЯ 1

**Ступінь впливу ліпофільних фракцій підмаренника справжнього
на адгезивну дію збудників інфекційних захворювань**

Мікроорганізми	Індекс адгезивності мікроорганізмів щодо еритроцитів людини		
	Контроль	Хлороформний витяг	Етилацетатно-спиртовий витяг
<i>E.coli</i>	3,64±0,07	1,07±0,02**	1,04±0,02**
<i>Kl.pneumoniae</i>	5,84±0,16	1,31±0,04**	1,22±0,04**
<i>P.aeruginosa</i>	4,19±0,09	1,53±0,03*	1,64±0,03*
<i>P.mirabilis</i>	3,52±0,08	1,06±0,07*	2,01±0,09
<i>S.aureus</i>	5,32±0,11	1,48±0,05**	1,37±0,05**
<i>St.pyogenes</i>	5,41±0,17	1,91±0,05*	2,16±0,05
<i>N.meningitidis</i>	4,82±0,13	1,64±0,08*	1,64±0,08*
<i>C.albicans</i>	4,65±0,09	1,24±0,07*	1,35±0,07

Примітки: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$.

глікопротеїнами, які антигенно споріднені рецепторам слизової оболонки [8, 9].

Метою дослідження було встановлення ступеня впливу ліпофільних фракцій підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) на адгезивні властивості мікроорганізмів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ліпофільні фракції отримували шляхом послідовного вичерпного екстрагування хлороформом та етилацетатно-спиртовою сумішшю (8:2) подрібненої повітряно-сухої трави підмаренника справжнього, заготовленої у фазі цвітіння в Харківській області влітку 2009 р. [5].

Вплив хлороформної та етилацетатно-спиртової фракцій на адгезивну властивість бактерій визначали за рівнем індексу адгезивності щодо еритроцитів людини за методиками В.І.Бріліс [6]. Для дослідження використовували тест-культури *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Neisseria meningitidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*. Суміш формалінованих еритроцитів людини 0(I) Rh(+) групи крові та одноміліардної суспензії мікроорганізму інкубували при 37°C протягом 30 хв., регулярно струшуючи суміш. Після чого готували мазки, висушували, фіксували та фарбували за методикою Романовського-Гімзе. Вивчення адгезії проводили під світловим мікроскопом, підрахунок вели на 50 еритроцитах, враховуючи не більше 5 еритроцитів в одному полі зору. Під час аналізу адгезивних властивостей бактерій використовували показник індексу адгезивності. Мікроорганізми з індексом адгезивності менше 1,75 вважали неадгезивними, 1,76-2,5 – низькоадгезивними, 2,51-4,0 – середньоадгезивними, більше 4,0 –

високоадгезивними. Результати досліджень статистично оброблялись за С.Гланц [2].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ступінь впливу ліпофільних фракцій трави підмаренника справжнього на адгезивну дію мікроорганізмів досліджували в суббактеріостатичних дозах (25% від мінімальної, затримуючої ріст мікробів концентрації). Адгезивність мікроорганізмів щодо еритроцитів людини та ступінь впливу на неї досліджуваних фракцій наведені в табл. 1.

Привертає увагу досить високий індекс адгезивності по відношенню до еритроцитів людини клінічно значущих штамів клебсієл, золотистого стафілококу, стрептококу, нейсерій і кандид. Аналіз отриманих даних свідчить, що достатньо виражено інгібували адгезивну активність тест-штамів мікроорганізмів за критерієм рівнів індексу адгезивності обидві досліджувані фракції. Для хлороформної фракції притаманна більш виражена антиадгезивна активність по відношенню до *P.aeruginosa* (63,48%), *P.mirabilis* (69,89%), *St.pyogenes* (64,70%), *C.albicans* (73,33%). Етилацетатно-спиртова фракція проявляє антиадгезивну дію на тому ж рівні, що й хлороформна фракція по відношенню до *E.coli* (відповідно 71,43% і 70,60%) та *N.meningitidis* (65,98%). Дещо вищу інгібуючу активність має етилацетатно-спиртова фракція по відношенню до *Kl.pneumoniae* (79,11%), *S.aureus* (74,25%).

Найвищу активність обидві фракції показали по відношенню до *Kl.pneumoniae* (77,57% та 79,11%). Найменше виражена антиадгезивна дія виявилась в етилацетатно-спиртової фракції по відношенню до *P.mirabilis* (42,90%).

Хлороформна фракція, яка містить хлорофіли, терпеноїди та ароматичні сполуки у співвідношенні 10:10:4,4, проявляє на 27% вищу антиадгезивну активність по відношенню до *P. mirabilis*, ніж етилацетатно-спиртова, яка містить терпеноїди та ароматичні сполуки у співвідношенні 1:4,2.

Отримані дані корелюють з результатами досліджень компонентного складу ліпофільних фракцій і можуть бути поясненням механізму антибактеріальної дії хлорофілів, терпеноїдів та ароматичних сполук.

ВИСНОВКИ

1. Досліджено ступінь впливу ліпофільних фракцій трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.) на адгезивну властивість збудників інфекційних захворювань.

2. Виявлено, що досліджувані фракції проявляють виражені протиадгезивні властивості по відношенню до *E.coli*, *Kl.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *P.mirabilis*, *S.aureus*, *St.pyogenes*, *C.albicans*, *N.meningitidis*.

3. Найбільшу активність обидві фракції показали по відношенню до *Kl.pneumoniae*.

4. Хлороформна фракція, яка містить хлорофіли, терпеноїди та ароматичні сполуки у співвідношенні 10:10:4,4, проявляє на 27% вищу антиадгезивну активність по відношенню до *P.mirabilis*, ніж етилацетатно-спиртова, яка містить терпеноїди та ароматичні сполуки у співвідношенні 1:4,2.

5. Отримані дані частково пояснюють одну зі сторін механізму протимікробної дії сполук рослинного походження і окреслюють перспективу можливого застосування їх у низьких дозах з метою зниження селективних переваг клінічно значущих мікроорганізмів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Борисов И.В. Антибактериальная терапия при остеомиелите (систематизированный обзор) // Антибиотики и химиотерапия. — 2007. — Т.48, №9. — С. 37-40.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. — М.: Практика, 2001. — 459 с.
3. Гудзь О.В. Современные подходы к дезинфекции медицинских инструментов и эндоскопов // Провизор. — 2006. — №11. — С. 39-43.
4. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л.Буданцев, Е.Е.Лесиовская. — СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. — 663 с.
5. Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В. Компонентний склад петролейної, хлороформної та етилацетатної фракцій трави *Galium verum* // Український

біофармацевтичний журнал. — 2009. — №5 (5). — С. 31-36.

6. Руденко Л.М. Ступінь впливу просторово розгалужених похідних фенолу на адгезивні і протилізоцимні властивості клінічно значущих патогенів // Анналі Мечніковського Інституту. — 2008. — №4. — С. 61-66.
7. Kawasaki Y., Tazume S., Shimizu K. et al. Saliva promotes candida albicans adherence to human epithelial cells // Biosci-Biotechnol-Biochem. — 2000. — №64 (2). — P. 348-354.
8. Mariap Mc.G., Kleger A.S. Toxyty of Staphylocococaealpha toxin for rabbit alveolar macrophages // Infect. and Immun. — 2005. — Vol. 39. — №10. — P. 439-444.
9. Soto Gabriel E, Hultgren Scot. The revival of interest in mechanisms of bacterial pathogenicity // J. Bacteriol. — 2005. — №1. — P. 921-924.

О.В.Горячая, Н.В.Капур, А.Ю.Волянский, Т.В.Ильина, А.М.Ковалева, Т.П.Осолодченко.
Исследование влияния липофильных фракций травы подмаренника настоящего на адгезивные свойства микроорганизмов. Харьков, Украина.

Ключевые слова: подмаренник настоящий, липофильные фракции, адгезивные свойства.

Исследована степень влияния хлороформной и этилацетатно-спиртовой фракции травы подмаренника настоящего (*Galium verum* L.) на адгезивные свойства патогенных микроорганизмов. Установлено, что липофильные фракции оказывают выраженные противоадгезивные свойства в отношении ряда микроорганизмов. Показано, что обе фракции проявляют одинаковый уровень активности по отношению к *Escherichia coli* и *Neisseria meningitidis*. Хлороформное извлечение травы *Galium verum* более активно по отношению к *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, этилацетатно-спиртовое — к *Klebsiella pneumoniae* и *Staphylococcus aureus*. Наибольшую ингибирующую активность обе фракции выявляют по отношению к *Klebsiella pneumoniae*. Хлороформная фракция, содержащая хлорофиллы, терпеноиды и ароматические соединения в соотношении 10:10:4,4, проявляет антиадгезивную активность по отношению к *Proteus mirabilis* на 27% выше, чем этилацетатно-спиртовая, включающая терпеноиды и ароматические соединения в соотношении 1:4,2. Результаты исследований частично объясняют механизм антибактериальной активности полученных липофильных комплексов и очерчивают перспективу возможного использования их в низких дозах с целью снижения селективных преимуществ клинически значимых микроорганизмов.

O.V.Goryachaya, N.V.Kashpur, A.Y.Volaynsky, T.V.Ilyina, A.M.Kovaleva, T.P.Osolodchenko. Research of influence of Lady's Bedstraw herb lipophilic fractions on adhesive properties of microorganisms. Kharkiv, Ukraine.

Key words: Lady's Bedstraw, lipophilic fractions, adhesive properties.

Influence of Lady's Bedstraw herb (*Galium verum* L.) chloroformic and ethylacetate-ethanolic fractions on adhesive properties of pathogenic microorganisms has been estimated. It has been established that lipophilic fractions possess a distinct antiadhesive effect on used microorganisms test-cultures. Both fractions possess the same inhibiting effect on *Escherichia coli* and *Neisseria meningitidis*. The chloroformic fraction

of *Galii veri* herb has strongest influence on *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans*, the ethylacetate-ethanolic fraction – on *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. Both fractions possess the strongest inhibiting effect on *Klebsiella pneumoniae*. The chloroformic fraction, which contains chlorophylls, carotenoids and aromatic compounds in the ratio 10:10:4,4, possesses antiadhesive effect on *Proteus mirabilis* greater by 27% than the ethylacetate-ethanolic fraction, which contains terpenoids and aromatic compounds in the ratio 1:4,2. Experimental results partly explain the mechanism of the antibacterial activity of obtained lipophilic fractions and prove availability of their usage in low dosage for decreasing selective advantages of pathogenic microorganisms.

Надійшла до редакції 08.12.2010 р.