

О.В. Очкур<sup>1</sup>, Н.В. Кашпур<sup>2</sup>, А.М. Ковальова<sup>1</sup>, Т.В. Ільїна<sup>1</sup>, А.Ю. Волянський<sup>2</sup>, Т.П. Осолодченко<sup>2</sup>

## Вплив ліпофільних фракцій видів роду *Artemisia L.* на адгезивні властивості мікроорганізмів

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків,<sup>2</sup>ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України»

**Ключові слова:** полин гіркий, полин звичайний, полин австрійський, ліпофільні фракції, мікроорганізми, адгезія.

**Ключевые слова:** полынь горькая, полынь обыкновенная, полынь австрийская, липофильные фракции, микроорганизмы, адгезия.

**Key words:** *Artemisia absinthium*, *Artemisia vulgaris*, *Artemisia austriaca*, lipophilic fractions, microorganisms, an adhesion.

Досліджено ступінь впливу хлороформних та етилацетатно-спиртових фракцій трави полину гіркокого (*Artemisia absinthium L.*), полину звичайного (*A. vulgaris L.*) та полину австрійського (*A. austriaca Jacq.*) на адгезивні властивості патогенних мікроорганізмів. Встановлено, що ліпофільні фракції мають виражену протиадгезивну активність відносно використаних тест-штамів мікроорганізмів. Показано, що найвищу інгібуючу активність серед усіх досліджених фракцій має хлороформний витяг трави полину австрійського. Встановлено кореляцію між кількісним вмістом спиртів, фенольних сполук, суми спиртів і фенолів у досліджуваних фракціях полинів та зменшенням індексу адгезивності відносно окремих мікроорганізмів. Результати досліджень частково пояснюють механізм антибактеріальної активності субстанцій рослинного походження та окреслюють перспективу їх можливого застосування у низьких дозах для зниження селективних переваг клінічно значущих мікроорганізмів.

Исследована степень влияния хлороформных и этилацетатно-спиртовых фракций травы полыни горькой (*Artemisia absinthium L.*), полыни обыкновенной (*A. vulgaris L.*) и полыни австрийской (*A. austriaca Jacq.*) на адгезивные свойства патогенных микроорганизмов. Установлено, что липофильные фракции проявляют выраженные противoadгезивные свойства по отношению к использованным тест-штаммам микроорганизмов. Показано, что наиболее высокую ингибирующую активность среди всех исследованных фракций имеет хлороформное извлечение полыни австрийской. Установлена корреляция между количественным содержанием спиртов, фенольных соединений, суммы спиртов и фенолов в исследуемых фракциях полыни и уменьшением индекса адгезивности относительно отдельных микроорганизмов. Результаты исследований частично объясняют механизм антибактериальной активности субстанций растительного происхождения и очерчивают перспективу возможного использования в низких дозах для снижения селективных преимуществ клинически значимых микроорганизмов.

The degree of influence of *Artemisia absinthium L.*, *A. vulgaris L.* and *A. austriaca Jacq.* herbs chloroformic and ethylacetate-ethanolic fractions on adhesive properties of pathogenic microorganisms has been investigated. It has been established that lipophilic fractions poses a pronounced antiadhesive effect on used microorganisms test-cultures. It is shown that chloroformic extract of *A. austriaca Jacq.* has the highest inhibitory activity among all fractions investigated. The correlation between quantitative levels of alcohol, phenolic compounds, amounts of alcohols and phenols in the investigated fractions of *Artemisia* and a decrease in the index of adhesiveness with respect to certain microorganisms has been established. Results of the experiment partly explain the mechanism of the antibacterial activity of plant biologically active substances and show an availability of their usage in low dosage for decreasing selective advantages of pathogenic microorganisms.

Рід Полин (*Artemisia L.*) належить до родини Айстрові (Складноцвітні), або *Asteraceae (Compositae)* й об'єднує близько 500 видів, з яких понад 30 ростуть на території України. Найбільш розповсюджені серед них – полин гіркий (*Artemisia absinthium L.*), полин звичайний (*A. vulgaris L.*) та полин австрійський (*A. austriaca Jacq.*), що стали об'єктами нашого вивчення. Комплекси біологічно активних речовин (БАР), що містяться у траві досліджуваних видів, зумовлюють їх широке застосування як в офіційній, так і в народній медицині, в тому числі, у якості антибактеріальних засобів. У досліджуваних видах полину раніше виявлено моно-, сесквітерпеноїди й ароматичні терпеноїдні феноли, специфічні сесквітерпенові лактони, гідроксикумарини,

флавоноїди, жирні кислоти, складні ефіри жирних кислот і спиртів, хлорофіли [3,5].

Антимікробна дія ліпофільних екстрактів полинів зумовлена такими БАР, як хлорофіли, терпеноїди, деякі фенольні й ароматичні сполуки. Однією з найбільш характерних властивостей мікроорганізму, що сприяє появі патогенного потенціалу, є адгезія [7]. Саме від неї залежить склад, стабільність і захисні властивості мікрофлори організму. Збудники інфекційних захворювань також мають достатньо виражену адгезивність. Закріплення збудників на тканинах різного походження в осередку інфекції започатковує подальший розвиток інфекційного процесу. Відомо, що бактеріальна адгезія до клітинних поверхонь може інгібуватись

антибіотиками, вакцинами, розробленими з адгезинів, секреторними імуноглобулінами або глікопротеїнами, антигенно спорідненими рецепторами слизової оболонки [1,6].

Доцільно вивчити вплив терпеноїдів, фенольних сполук, що містяться в ліпофільних фракціях полину, на ступінь адгезивності мікроорганізмів.

#### Мета роботи

Встановити ступінь впливу ліпофільних фракцій полину гіркого, полину звичайного та полину австрійського на адгезивні властивості мікроорганізмів і виявити залежність цього впливу від хімічного складу фракцій.

#### Матеріали і методи дослідження

Ліпофільні фракції отримували шляхом послідовного вичерпного екстрагування хлороформом та етилацетатно-спиртовою сумішшю у співвідношенні 8:2 повітряно-сухої трави 3 видів полину, заготовлених у фазі цвітіння влітку 2009 р. Сумарний вміст фенольних сполук, терпеноїдних і нижчих спиртів, у тому числі ефірів, в отриманих фракціях наведено у табл. 1.

Таблиця 1

#### Вміст легких фенольних сполук та спиртів у ліпофільних фракціях полинів

Фракція	Вміст фенольних сполук не менше, мг%	Вміст терпеноїдних і нижчих спиртів (у т. ч. ефірів) не менше, мг%,	Сумарний вміст фенольних сполук, спиртів та ефірів не менше, мг%,
Хлороформна фракція п. гіркого	50	470	520
Етилацетатно-спиртова фракція п. гіркого	20	115	135
Хлороформна фракція п. звичайного	60	50	110
Етилацетатно-спиртова фракція п. звичайного	55	75	130
Хлороформна фракція п. австрійського	205	420	625
Етилацетатно-спиртова фракція п. австрійського	45	15	60

Вплив хлороформних та етилацетатно-спиртових фракцій на адгезивну властивість бактерій визначали за рівнем індексу адгезивності до еритроцитів людини за методиками В.І. Бриліс [4]. 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 й одноміліардної суспензії мікроорганізму інкубували при 37°C протягом 30 хв, регулярно струшуючи суміш. Після інкубування готували мазки,

висушували, фіксували та фарбували за методикою Романовського-Гімзи. Вивчення адгезії проводили за допомогою світлового мікроскопу, підрахунок вели на 50 еритроцитах, враховуючи не більше 5 еритроцитів в одному полі огляду. 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 оброблювали за методом С. Гланц [2].

#### Результати та їх обговорення

Ступінь впливу ліпофільних фракцій трави полину на адгезивну дію мікроорганізмів досліджували в суббактеріостатичних дозах (25% від мінімальної затримуючої ріст мікробів концентрації). Адгезивність мікроорганізмів до еритроцитів людини та ступінь впливу на неї досліджуваних ліпофільних фракцій полину гіркого, полину звичайного та полину австрійського наведено в табл. 2–4 та на рис. 1–3 відповідно.

Таблиця 2

#### Ступінь впливу ліпофільних фракцій *Artemisia absinthium* L. у суббактеріостатичних дозах на адгезивну активність мікроорганізмів

Мікроорганізми	Індекс адгезивності мікроорганізмів щодо еритроцитів людини		
	Контроль	3 хлороформною фракцією	3 етилацетатно-спиртовою фракцією
<i>E. coli</i>	3,64±0,07	1,59±0,07*	2,06±0,09
<i>Kl. pneumoniae</i>	5,84±0,16	2,26±0,04*	2,32±0,11*
<i>P. aeruginosa</i>	4,19±0,09	2,38±0,07*	2,96±0,05*
<i>P. mirabilis</i>	3,52±0,08	1,92±0,05*	1,80±0,07
<i>S. aureus</i>	5,32±0,11	2,48±0,09*	3,14±0,09*
<i>S. pyogenes</i>	5,41±0,17	2,54±0,09*	3,76±0,06*
<i>N. meningitidis</i>	4,82±0,13	1,67±0,06*	3,08±0,05*
<i>C. albicans</i>	4,65±0,09	1,49±0,05*	2,14±0,07*

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

Таблиця 3

#### Ступінь впливу ліпофільних фракцій *Artemisia vulgaris* L. у суббактеріостатичних дозах на адгезивну активність мікроорганізмів

Мікроорганізми	Індекс адгезивності мікроорганізмів до еритроцитів людини		
	Контроль	3 хлороформною фракцією	3 етилацетатно-спиртовою фракцією
<i>E. coli</i>	3,64±0,07	2,14±0,08*	2,35±0,05
<i>Kl. pneumoniae</i>	5,84±0,16	1,35±0,04**	3,71±0,06*
<i>P. aeruginosa</i>	4,19±0,09	1,50±0,06*	3,14±0,07*
<i>P. mirabilis</i>	3,52±0,08	1,69±0,06*	1,98±0,04
<i>S. aureus</i>	5,32±0,11	2,11±0,07*	3,76±0,02*
<i>S. pyogenes</i>	5,41±0,17	2,30±0,05*	3,58±0,11*
<i>N. meningitidis</i>	4,82±0,13	2,07±0,08*	2,36±0,09
<i>C. albicans</i>	4,65±0,09	2,04±0,07*	2,28±0,08*

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

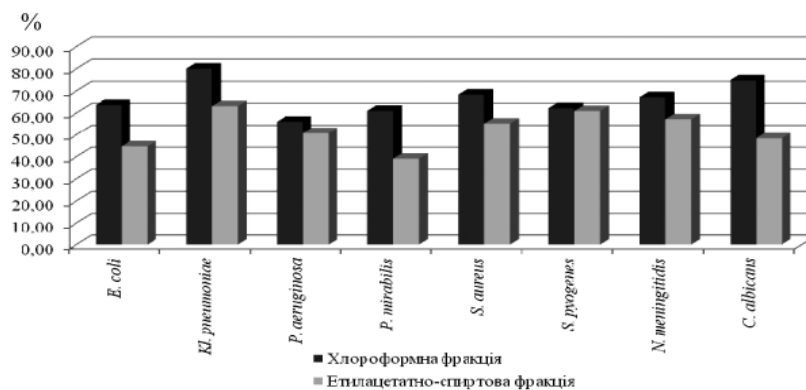


Рис. 1. Зменшення індексу адгезивності мікроорганізмів під впливом ліпофільних фракцій *Artemisia absinthium L.* (%).

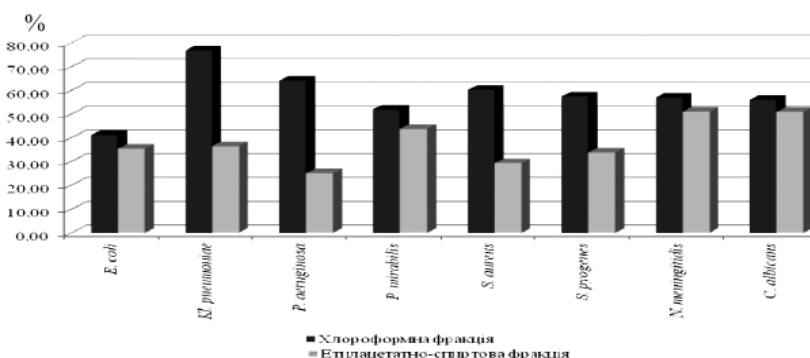


Рис. 2. Зменшення індексу адгезивності мікроорганізмів під впливом ліпофільних фракцій *Artemisia vulgaris L.* (%).

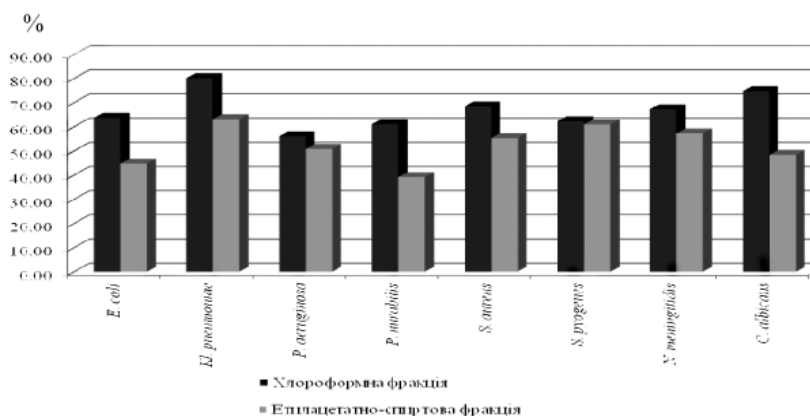


Рис. 3. Зменшення індексу адгезивності мікроорганізмів під впливом ліпофільних фракцій *Artemisia austriaca Jacq.* (%).

**Таблиця 4**  
**Ступінь впливу ліпофільних фракцій Artemisia austriaca Jacq. в суббактеріостатичних дозах на адгезивну активність мікроорганізмів**

Мікроорганізм	Індекс адгезивності мікроорганізмів щодо еритроцитів людини		
	Контроль	З хлороформною фракцією	З етилацетатно-спиртовою фракцією
<i>E. coli</i>	3,64±0,07	1,32±0,04*	2,01±0,06
<i>Kl. pneumoniae</i>	5,84±0,16	1,16±0,06**	2,15±0,07*
<i>P. aeruginosa</i>	4,19±0,09	1,84±0,04*	2,06±0,04*
<i>P. mirabilis</i>	3,52±0,08	1,37±0,07*	2,14±0,09
<i>S. aureus</i>	5,32±0,11	1,68±0,05**	2,38±0,07*
<i>S. pyogenes</i>	5,41±0,17	2,04±0,09*	2,11±0,05
<i>N. meningitidis</i>	4,82±0,13	1,58±0,03*	2,06±0,07*
<i>C. albicans</i>	4,65±0,09	1,17±0,05*	2,40±0,08

Примітка: \* – P < 0,05; \*\* – P < 0,01.

Аналіз отриманих даних свідчить, що за критерієм рівнів індексу адгезивності до еритроцитів людини помітно інгібували адгезивну активність використаних тест-штамів мікроорганізмів усі досліджувані фракції, однак у більшості випадків хлороформні фракції були активнішими за відповідні етилацетатно-спиртові (окрім фракцій полину гіркого відносно *P. mirabilis*), рідше мали близькі значення. Найвищу інгібуючу активність до більшості мікроорганізмів серед усіх досліджених фракцій виявив хлороформний витяг з трави полину австрійського: ступінь зменшення адгезивності *E. coli* склав 63,74%, *Kl. pneumoniae* – 80,14%, *P. mirabilis* – 61,08%, *S. aureus* – 68,42%, *S. pyogenes* – 62,29%, *N. meningitidis* – 67,22%, *C. albicans* – 74,84%. Хлороформна фракція з трави полину звичайного активніша за інші фракції відносно *P. aeruginosa* (64,20%), крім того, виявляє дуже

високу активність до *Kl. pneumonia* (76,88%). Хлороформна фракція полину гіркого найбільше пригнічує адгезивну активність *N. meningitidis* (65,35%) і *C. albicans* (67,96%). Серед етилацетатно-спиртових фракцій найактивнішою відносно більшості мікроорганізмів є фракція полину австрійського: її активність до *Kl. pneumonia* склала 63,18%, до *S. pyogenes* – 61%.

Аналіз результатів досліджень дозволив виявити кореляцію між вмістом БАР і біологічною дією. Встановлено кореляцію між вмістом спиртів, фенольних сполук, суми спиртів і фенолів у хлороформних фракціях полинів і зменшенням індексу адгезивності відносно *E. coli* – на рівні 71,38%, 90,55% і 99,09% відповідно; *N. meningitidis* – на рівні 59,68%, 96,03%, 99,98% відповідно; *C. albicans* – на рівні 74,33%, 88,64%, 98,42% відповідно. Для окремих тест-штамів мікроорганізмів спостерігається кореляція між зменшенням індексу адгезивності та вмістом спиртів у досліджуваних фракціях полинів: *N. meningitidis* (етилацетатно-спиртові фракції) – 84,13%, *S. pyogenes* (хлороформні фракції) – 90,33%, *S. aureus* (хлороформні фракції) – 91,19%, *P. mirabilis* (хлороформні фракції) – 93,16%.

Для етилацетатно-спиртових фракцій встановлено пряму кореляцію вмісту фенольних сполук, а також вмісту суми спиртів і фенольних сполук зі зменшенням індексу адгезивності відносно *C. albicans* – на рівні

98,73% і 87,36%; відносно *P. mirabilis* – 98,90% і 87,88% відповідно.

Отримані дані можуть бути пояснені механізмом антибактеріальної дії ліпофільних сполук з трави полину гіркого, полину звичайного та полину австрійського.

#### Висновки

1. Досліджено ступінь впливу шести ліпофільних фракцій, отриманих з трави полину гіркого, полину звичайного та полину австрійського, на адгезивну активність збудників інфекційних захворювань.

2. Виявлено, що досліджувані фракції мають виражені протиадгезивні властивості відносно штамів *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria meningitidis* і *Candida albicans*.

3. Хлороформні фракції досліджуваних видів полину виявляють більш виражену антиадгезивну дію, ніж етилацетатно-спиртові. Найвищу інгібуючу активність мають хлороформна та етилацетатно-спиртова фракції з трави полину австрійського.

4. Встановлено кореляцію між кількісним вмістом спиртів, фенольних сполук, суми спиртів і фенолів у досліджуваних фракціях полинів і зменшенням індексу адгезивності відносно окремих мікроорганізмів.

#### Література

1. Борисов І.В. Антибактеріальна терапія при остеомиеліте (систематизований обзор) / Борисов І.В. // Антибіотики і хіміотерапія. – 2007. – Т. 48, №9. – С. 37–40.
2. Гланц С. Медико-біологічна статистика / Гланц С.; пер. с англ. – М.: Практика, 2001. – 459 с.
3. Порівняльне хромато-мас-спектрометричне дослідження терпеноїдних сполук ефірних олій полину звичайного та полину гіркого / А.М. Ковальова, О.В. Очкур, А.О. Вальдовський // 36. трудів НМАПО. – 2009. – Вип. 18, кн. 3. – С. 444–448.
4. Руденко Л.М. Ступінь впливу просторово розгалужених похідних фенолу на адгезивні і протилізоцимні властивості клінічно значущих патогенів / Руденко Л.М. // Анналі Мечніковського Інституту. – 2008. – №4. – С. 61–66.
5. Фітохімічне вивчення ефірної олії полину гіркого / О.В. Гречана, О.В. Мазулін, О.Г. Виноградова та ін. // Фармацевтичний журнал. – 2006. – №2. – С. 82–86.
6. Mariap Mc.G. Toxity of Staphylococcocoeae alpha toxin for rabbit alveolar macrophages / Mariap Mc.G., Kleger A.S. // Infect.and Immun. – 2005. – Vol. 39. – №10. – P. 439–444.
7. Soto G.E. The revival of interest in mechanisms of bacterial pathogenicity / Soto G.E., Hultgren S. // J. Bacteriol. – 2005. – №1. – P. 921–924.

#### Відомості про авторів:

Очкур О.В., аспірант каф. фармакогнозії НФаУ.

Кашпур Н.В., мол. наук. співробітник лабораторії імунореабілітології ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова АМН України».

Ковальова А.М., д. фарм. н., професор каф. фармакогнозії НФаУ.

Ільїна Т.В., к. фарм. н., доцент каф. фармакогнозії НФаУ.

Волянський А.Ю., к. мед. н., зав. лабораторії імунореабілітології ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова АМН України».

Осолодченко Т.П., зав. лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова АМН України».

#### Адреса для листування:

Кашпур Наталія Валеріївна, м. Харків, вул. Коломенська, 25, кв. 45.

E-mail: kashpumat@bk.ru