



Н.В. Кашпур², О.В. Горяча¹, Т.В. Ільїна¹, А.М. Ковальова¹, А.Ю. Волянський², Т.П. Осолодченко²

Дослідження антибактеріальної та антифунгальної активності хлороформних фракцій трави *Galium dasypodum* Klok. і *Galium salicifolium* Klok.

¹Національний фармацевтичний університет, м. Харків,

²ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечнікова АМН України», м. Харків

Ключові слова: антибактеріальна й антифунгальна активності, підмаренник пухнастоногий, підмаренник верболистий.

Ключевые слова: антибактериальная и антифунгальная активности, подмаренник пушистоногий, подмаренник верболистный.

Key words: antibacterial and antifungal activity, *Galium dasypodum* Klok., *Galium salicifolium* Klok.

Досліджено антибактеріальну й антифунгальну активності ліпофільних витягів трави *Galium dasypodum* Klok. та *Galium salicifolium* Klok., що відрізняються за компонентним складом, визначено ступінь цих видів активностей. Встановлено, що *St. aureus* є високочутливим до досліджуваних фракцій. До хлороформного витягу трави *G. dasypodum* високочутливими є *P. vulgaris* і *C. albicans*. *P. aeruginosa* і *B. subtilis* є достатньо чутливими до ліпофільної фракції трави *G. salicifolium*. Відмінності у спектрах протимікробної активності, а також ступенях цих видів активності можуть служити підтвердженням таксономічної самостійності підмаренника пухнастоногого та підмаренника верболистого. Отримані дані свідчать про доцільність подальших досліджень ліпофільних фракцій трави *G. dasypodum* і *G. salicifolium* з використанням клінічних штамів мікроорганізмів.

Исследована антибактериальная и антифунгальная активности хлороформных фракций травы *Galium dasypodum* Klok. и *Galium salicifolium* Klok., которые отличаются компонентным составом, определена степень этих видов активностей. Установлено, что *St. aureus* высокочувствителен к исследуемым фракциям. *P. vulgaris* и *C. albicans* высокочувствительны к хлороформному экстракту травы *G. dasypodum*, *P. aeruginosa* и *B. subtilis*, достаточно чувствительны к липофильной фракции травы *G. salicifolium*. Отличия в спектре противомикробной активности, а также степени этих видов активности могут быть подтверждением таксономической самостоятельности подмаренника пушистоногого и подмаренника верболистного. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейших исследований липофильных фракций с использованием клинических штаммов микроорганизмов.

Antibacterial and antifungal activity of *Galium dasypodum* Klok. and *Galium salicifolium* Klok. herbs' chloroformic fractions, which differ in component content, has been studied and a degree of these activities has been established. It was found that *St. aureus* is highly sensitive to both lipophilic fractions. Chloroformic fraction of *G. dasypodum* herb revealed the high inhibiting effect in relation to *P. vulgaris* and *C. albicans*. Lipophilic fraction of *G. salicifolium* herb possess middle inhibiting effect on *P. aeruginosa* та *B. subtilis*. Differences in the antibacterial and antifungal activity and its degree can serve as a proof of *Galium dasypodum* Klok. and *Galium salicifolium* Klok. taxonomic independence. The data obtained testify an expediency of further studies of *G. dasypodum* and *G. salicifolium* herbs' lipophilic fractions using clinical strains of microorganisms.

Пошук антибактеріальних і протигрибкових засобів рослинного походження є актуальним завданням фармацевтичної науки [3,7].

У народній медицині широко використовують види роду підмаренник (*Galium* L.) родини маренові (*Rubiaceae*) для лікування інфекційних захворювань шкіри, дихальної, сечостатевої системи та сепсису [5].

У східній частині України трапляються підмаренник пухнастоногий (*Galium dasypodum* Klok.) і підмаренник верболистий (*Galium salicifolium* Klok.). З огляду на складність у систематиці роду, пов'язані з поліморфізмом і високим рівнем гібридизації видів, деякі дослідники ці види ототожнюють [8].

Мета роботи

Для пошуку перспективних вітчизняних рослинних джерел протимікробних субстанцій і вирішення дискусійних питань з таксономічної самостійності

Galium dasypodum і *Galium salicifolium* доцільним було проведення порівняльного дослідження хімічного складу, антибактеріальної та антифунгальної активності хлороформних фракцій трави цих видів.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження були хлороформні фракції, які отримували методом вичерпної екстракції хлороформом повітряно сухої трави підмаренника пухнастоногого (*Galium dasypodum* Klok.) та підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.), заготовленої у фазу цвітіння влітку 2010 р. Вивчення компонентного складу фракцій проводили хромато-мас-спектрометричним методом [9] на спектрографі фірми «Хьюлет-Паккард» (HP), США, що складається з хроматографа марки HP6890 GC та мас-селективного детектора 5973N; за методикою, описаною раніше [2].

Для мікробіологічних досліджень отримані екстракти

використовували у вигляді 5% спиртових розчинів.

Для визначення антибактеріальної активності фракцій використовували м'ясо-пептонний агар, агар Мюллера-Хінтона та середовище Сабуро. Кожну серію живильного середовища якісно та кількісно контролювали згідно з нормативними документами.

Антибактеріальну й антифунгальну активність фракцій визначали у дослідях *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») [6]. Оцінку активності досліджуваних фракцій проводили на стандартних штаммах мікроорганізмів, регламентованих ВООЗ для вивчення антимікробної дії препаратів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 885-663. Для визначення антимікробної дії культури мікроорганізмів вирощували на щільному живильному агарі при 26°C та 37°C. Термін культивування мікроорганізмів складав 24 години. Ступінь чутливості мікроорганізмів відносно досліджуваних фракцій оцінювали за розміром зон затримки їх росту.

Для кількісної оцінки антимікробної та антифунгальної активностей ліпофільних фракцій і визначення мінімальної пригнічуючої рiст мікроорганізмів концентрації використовували метод серійних розведень [1,4].

Результати та їх обговорення

При хромато-мас-спектрометричному дослідженні хлороформних фракцій трави підмаренника пухнастоного та підмаренника верболистого встановле-

но суттєві відмінності у їх компонентному складі (табл. 1). Хлороформна фракція трави підмаренника пухнастоного містить (мг/кг): терпеноїди (1105,5), серед яких монотерпеноїди (196,9), дитерпеноїди (908,6); вищі аліфатичні вуглеводні (3016); вищі жирні кислоти та їх похідні (4332). До складу хлороформної фракції трави підмаренника верболистого входять: терпеноїди (223,2 мг/кг), серед яких монотерпеноїди (115,3), сесквітерпеноїди (34,1), дитерпеноїди (43,7) та тритерпеноїд сквален (30,1); вищі аліфатичні вуглеводні (400,5); вищі жирні кислоти та їх похідні (568).

При дослідженні протимікробної та антифунгальної активностей встановлено, що *S. aureus* є високочутливим до ліпофільних фракцій (табл. 2). Відносно *P. vulgaris* і *C. albicans* високу інгібуючу активність виявив хлороформний витяг трави *G. dasypodium*. Достатньо чутливими до хлороформної фракції трави *G. salicifolium* є *P. aeruginosa* та *B. subtilis*. Малочутливою до досліджуваних концентрацій ліпофільних витягів є *E. coli*.

При визначенні мінімальних бактерицидної (МБЦК) та бактериостатичної (МБСК) концентрацій (табл. 3) встановлено, що відносно *S. aureus* МБЦК і МБСК хлороформної фракції підмаренника пухнастоного у двічі нижчі, ніж у хлороформної фракції підмаренника верболистого.

МБЦК, МБСК для *P. vulgaris* і мінімальні фунгіцидна (МФЦК) й фунгістатична (МФСК) концентрації для *C. albicans* досліджуваної фракції підмаренника пухнастоного в 4 рази нижчі, для *B. subtilis* – у двічі, ніж для фракції підмаренника верболистого.

Таблиця 1

Основні групи БАР хлороформних фракцій підмаренника пухнастоного і підмаренника верболистого

Основні групи БАР	Хлороформні фракції	
	підмаренника пухнастоного, мг/кг	підмаренника верболистого, мг/кг
Терпеноїди	1105,5	223,2
- монотерпеноїди	196,9	115,3
- сесквітерпеноїди	-	34,1
- дитерпеноїди	908,6	43,7
- тритерпеноїди	-	30,1
Вищі аліфатичні вуглеводні	3016	400,5
Вищі жирні кислоти та їх похідні	4332	568

Таблиця 2

Антибактеріальна та антифунгальна активність хлороформних фракцій трави *Galium dasypodium* Klok. і *Galium salicifolium* Klok.

Сировина	Затримка росту мікроорганізмів, мм, (M±m)*					
	<i>S. aureus</i> 25923	<i>E. coli</i> 25922	<i>P. aeruginosa</i> 27853	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>P. vulgaris</i> 4636	<i>C. albicans</i> 885-663
<i>G. dasypodium</i>	32,3±0,3	12,0±0,1	15,0±0,1	11,0±0,1	32,3±0,3	30,3±0,2
<i>G. salicifolium</i>	30,3±0,4	12,1±0,2	20,2±0,3	20,0±0,3	13,1±0,2	10,0±0,1

Примітка: *M±m – середнє значення ± похибка середнього значення.

Таблиця 3

Ступінь антибактеріальної та антифунгальної активностей хлороформних фракцій трави *Galium dasypodum* Klok. та *Galium salicifolium* Klok.

Вид підмаренника	МБЦК та МФЦК, мкг/мл					
	<i>S. aureus</i> 25923	<i>E. coli</i> 25922	<i>P. aeruginosa</i> 27853	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>P. vulgaris</i> 4636	<i>C. albicans</i> 885-663
<i>G. dasypodum</i>	62,5	500	500	>1000	125	62,5
<i>G. salicifolium</i>	125	500	250	250	500	500
МБсКта МФсК, мкг/мл						
<i>G. dasypodum</i>	31,25	250	250	500	62,5	31,25
<i>G. salicifolium</i>	62,5	250	125	125	250	250

Висока антибактеріальна (*P. vulgaris*, *B. subtilis*) й антифунгальна ефективності (*C. albicans*) фракції підмаренника пухнастоного зумовлені значним вмістом терпеноїдів – 1105,5 мг/кг, більшим ніж у підмаренника верболистого майже у 5 разів – 223,2 мг/кг.

МБЦК і МБсК хлороформної фракції підмаренника верболистого відносно *P. aeruginosa* у двічі нижчі. Порівнюючи основні групи БАР, поясненням більшої активності може бути наявність сесквітерпеноїдів і тритерпеноїдів у досліджуваній фракції підмаренника верболистого.

Висновки

Вперше досліджено антибактеріальну й антифунгальну активності хлороформних фракцій трави *Galium dasypodum* Klok. і *Galium salicifolium* Klok., що

відрізняються за компонентним складом БАР.

Встановлено, що *Staphylococcus aureus* є високочутливим до ліпофільних екстрактів обох видів. Відносно *P. vulgaris* і *C. albicans* високу інгібуючу активність виявив хлороформний витяг трави *G. dasypodum* Klok. Достатньо чутливими до хлороформної фракції трави *G. salicifolium* Klok. є *P. aeruginosa* та *B. subtilis*.

Визначено ступінь антибактеріальної та антифунгальної активностей фракцій.

Відмінності у спектрах антибактеріальної та антифунгальної активностей підмаренників пухнастоного та верболистого, а також ступені цих видів активності зумовлені наявністю різних груп БАР і можуть служити підтвердженням їх таксономічної

Список літератури

1. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. реком. / [Ю.Л. Волянський, І.С. Гриценко, В.П. Ширококов та ін.]. – К., 2004. – 40 с.
2. Терпеноїди квіток *Galium verum* L. / Т.В. Ільїна, О.В. Горяча, А.М. Ковальова [та ін.] // Вісник фармації. – 2008. – №4. – С. 25–28.
3. Разработка композиций противомикробных средств с повышенной специфической активностью / В.В. Казмирчук, И. Ф. Белоконов, В. Ю. Евсюкова [и др.] // Анналы Мечниковского Института. – 2007. – №4. – С. 39–42.
4. Методические рекомендации определения активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций: метод. реком. / [Н.Ф. Калиниченко, Ю.Л. Волянський, З.Г. Старобинец и др.]. – Харьков, 1991. – 16 с.
5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Caprifoliaceae-Plantaginaceae / [глав. ред. П.Д. Соколов]. – Л.: Наука, 1990. – 326 с.
6. Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузным методом / Г.К. Решедько, О.У. Стецюк // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001. – Т. 3, №4. – С. 348–355.
7. Фитопрепарат антимикробного и противовоспалительного действия-эвкалимин / О.А. Семкина, Т. А. Сокольская, И.И. Краснюк [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – №8. – С. 52–56.
8. Флора Европейской части СССР: отв. ред. А. А. Федоров, ред. тома Ю.Л. Меницкий]. – Л.: Наука. – 1978. – Т. 3. – 259 с.
9. *Bicchi C.* Direct resistively heated column gas chromatography (Ultrafast module-GC) for high-speed analysis of essential oils of differing complexities / *C. Bicchi, C. Brunelli, C. Cordero, P. Rubiolo, M. Galli, A. Sironi* // *J. Chromatogr. A.* – 2004. – V. 1024, №1–2. – P. 195–207.

Відомості про авторів:

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

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

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.

Тел.: (098) 424 15 79. E-mail: kashpurnat@bk.ru.

Надійшла в редакцію 26.07.2011 р.