

Порівняльна характеристика результатів дослідження антимікробної активності густих спиртових екстрактів, отриманих із трави гірчака звичайного (*Polygonum aviculare* L.), непомітного (*P. neglectum* bees) та монпельйського (*P. monspeliense* Thieb. ex Pers.)

Н.Л.Количева, Т.М.Сіліна, В.М.Одинцова, О.В.Мазулін

Запорізький державний медичний університет
Запоріжжя, Україна

В експерименті *in vitro* методом дифузії в агар досліджено антимікробну активність густих спиртових екстрактів, отриманих із трави гірчака звичайного, непомітного та монпельйського по відношенню до еталонних тест-культур мікроорганізмів. Встановлено, що всі використовувані штами виявилися чутливими до досліджуваних експериментальних зразків. Найбільшу антимікробну активність всі без винятку екстракти проявляють відносно до *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans*.

Ключові слова: трава, густий спиртовий екстракт, гірчак, антимікробна активність, метод дифузії в агар.

ВСТУП

Сировина рослинного походження є практично невичерпним джерелом біологічно активних речовин, які, в свою чергу, знаходять застосування в сучасній медицині. Особливу увагу привертає відносно нешкідлива лікарська рослина сировина з широким спектром біологічної активності, зокрема та, що містить флавоноїди.

Гірчак звичайний (*Polygonum aviculare* L.) є офіційним видом роду гірчак (*Polygonum*), родини Гречкові (*Polygonaceae*). Поряд з ним в Україні росте багато морфологічно близьких до цієї рослини видів роду *Polygonum* L.: гірчак непомітний (*P. neglectum* Bees.) і гірчак монпельй-

ський (різнолистий) (*P. monspeliense* Thieb. ex Pers., *P. heterophyllum* Lindm., sin.) [2], які вивчені не повною мірою, але мають достатню сировинну базу і представляють практичний інтерес як джерело отримання нових ефективних фітопрепаратів. Трава гірчака звичайного містить флавоноїди (авікулярин, гіперин, ізорамнетин, міріцетин, кверцетин і кемпферол), дубильні речовини, сліди ефірної олії, полісахариди, сліди кумаринів, вітаміни С, Е, каротиноїди, фенолкарбонові кислоти (галлова, кофейна, п-кумарова, хлорогенова), антрахінони, смоли. В офіційній медицині трава гірчака звичайного використовується як сечогінний засіб [1]; у народній медицині багатьох країн світу – як в'язучий, кровоспинний засіб, при хворобах нирок, печінки, катарах шлунка, проносах, застарілому катарі сечового міхура, свіжих та застарілих пораненнях. Також є відомості, що водний екстракт трави гірчака звичайного проявляє протимікробну й протигрибкову активність, але дотепер у нашій країні не проводились дослідження щодо антимікробної активності екстракту трави гірчака звичайного [3-5].

Метою дослідження стало вивчення протимікробної активності густих екстрактів, отриманих із трави гірчака звичайного (*Polygonum aviculare* L.), непомітного (*P. neglectum* Bees.) і монпельйського (*P. monspeliense* Thieb. ex Pers.).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Екстрагування біологічно активних речовин скеровано не лише їх виділення, але й дозволяє

в ряді випадків отримати активні компоненти з найбільш зручною для використання формою.

Методика отримання густого екстракту з лікарської рослинної сировини досліджуваних гірчаків. Подрібнену до 1 мм траву гірчака екстрагували 70% спиртом етиловим у співвідношенні сировина/екстрагент 1:10 з урахуванням коефіцієнта водопоглинення при температурі 100°C на водяному огрівнику при безперервному помішуванні. Екстракцію повторювали тричі. Витяги фільтрували в приймач (конічну колбу вакуумного скла). Тривалість екстракції – 25-30 хв. Спиртові витяги очищали послідовно хлороформом, етилацетатом. Очищені витяги випаровували (згущували) у вакуум-випарних установках при температурі 50-60°C до належної густоти. Оскільки згущували витяг спиртовий, то спочатку відганяли спирт, не вмикаючи вакууму, та лише після відгону основної кількості останнього вмикали вакуумний насос.

Густий екстракт зберігали в герметично закупореній тарі. Вихід готового екстракту з лікарської рослинної сировини гірчака звичайного становив 17,47%. Перевірку антимікробної дії густих спиртових екстрактів, отриманих із лікарської рослинної сировини *Polygonum aviculare* L., *P. monspeliense* Thieb. ex Pers., *P. neglectum* Bees. (зразки №1, 2, 3 відповідно), проводили за стандартною методикою дифузії в агар у модифікації «колодязів» [1]. Метод ґрунтується на здатності активної речовини дифундувати в агар, на який проведено посів тест-культури. Результати, отримані за допомогою цього методу, дозволяють характеризувати антимікробну активність досліджуваного зразка, тому що зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії біологічно активних речовин у щільне живильне середовище. Під час експерименту використовували тест-штами бактерій та гриба роду *Candida*, отримані з національної колекції Київського НДІ епідеміології та інфекційних захворювань ім. Л.В.Громашевського. Створювали максимально сприятливі умови для культивування мікроорганізмів, а саме: м'ясо-пептонний агар для отримання добової культури бактерій, середовище Сабуро – для 48-годинної культури гриба роду *Candida*. Чашки Петрі однакового розміру встановлювали на горизонтальну поверхню (відрегульовану за ватерпасом) та заливали в них по 10 мл стерильного не зараженого тест-культурою «голодного» агару (середовище №4) [1]. Після застигання першого шару щільного живильного середовища на його поверхню встановлювали циліндри, виготовлені з нержавіючої сталі (висота 10 мм,

зовнішній діаметр 8 мм) та заливали їх «зараженим» середовищем №1 [1], а з метою визначення чутливості гриба роду *Candida* – середовищем Сабуро у кількості 15 мл. Для другого шару стерильне щільне живильне середовище, розлите в пробірки в кількості 15 мл, розплавляли на водяній бані, охолоджували до температури 45°C та інокулювали суспензіями тест-культур. Мікробне навантаження складало $1 \cdot 10^5$ КУО/мл. Суспензії готували в окремих пробірках у фізіологічному розчині екстрого з добової культури бактерій та 48-годинної культури гриба роду *Candida*. Концентрацію мікроорганізмів у суспензії визначали за державним стандартом каламутності №5. Після застигання другого шару циліндри виймали та в «колодязі», які утворилися між першим та другим шарами живильних середовищ, вносили досліджувані зразки густих спиртових екстрактів, отриманих із лікарської рослинної сировини *Polygonum aviculare* L., *P. monspeliense* Thieb. ex Pers., *P. neglectum* Bees. (зразки №1, 2, 3 відповідно) у кількості 0,3 мг. Експериментальні чашки Петрі інкубували при +37°C протягом 24 год. для культивування бактерій і при +25°C протягом 48 год. – гриба роду *Candida*. Діаметр зони затримки росту тест-культур вимірювали в мм, включаючи діаметр «колодязя». Оцінку антимікробної активності проводили за наступними критеріями:

- відсутність зони затримки росту мікроорганізмів навколо «колодязя», а також зони затримки діаметром до 6-10 мм оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до внесеного в «колодязь» зразка;
- зони затримки росту діаметром 11-20 мм оцінювали як чутливість культури до досліджуваного зразка;
- зони затримки росту діаметром понад 20 мм оцінювали як показник високої чутливості мікроорганізмів до зразка.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження антимікробної активності густих спиртових екстрактів, отриманих із лікарської рослинної сировини *Polygonum aviculare* L., *P. monspeliense* Thieb. ex Pers., *P. neglectum* Bees. (зразки №1, 2, 3 відповідно), по відношенню до еталонних тест-культур мікроорганізмів, наведені в табл. 1.

Отримані методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» дані свідчать про те, що всі використовувані штами виявилися чутливими до дії експериментальних зразків (табл. 1).

ТАБЛИЦЯ 1

Показники антибактеріальної та протигрибової активності досліджуваних зразків густих спиртових екстрактів (M±m)

Діаметр зон затримки росту, мм					
Об'єкт дослідження	Staphylococcus aureus 209p	Bacillus cereus variant anthracoides ГІСК 1939	Escherichia coli ATCC 25922	Pseudomonas Aeruginosa ATCC 9027	Candida albicans ATCC 10321
Зразок №1	17,3±0,3	18,3±0,3	16,6±0,3	28,6±0,6	24,6±0,3
Зразок №2	25±0,6	28,3±0,3	20±0,6	27,3±0,3	26,3±0,3
Зразок №3	23,5±0,5	24,6±0,6	14,3±0,3	33,6±0,3	22,3±0,3

Усі три густі спиртові екстракти мають виражену антибактеріальну дію по відношенню до *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (зони затримки росту 28,6±0,6; 27,3±0,3; 33,6±0,3 мм відповідно) та проявляють протигрибову активність по відношенню до гриба *Candida albicans* ATCC 10321 (зони затримки росту 24,6±0,3; 26,3±0,3; 22,3±0,3 мм відповідно). Зразки №2 та №3 характеризуються більш вираженою антибактеріальною активністю по відношенню до тест-культури *Staphylococcus aureus* 209p (зони затримки росту 25±0,6 і 23,5±0,5 мм відповідно) та *Bacillus cereus* variant anthracoides ГІСК 1939 (зони затримки росту 28,3±0,3 і 24,6±0,6 мм відповідно), ніж зразок №1, отриманий із лікарської рослинної сировини *Polygonum aviculare* L. (зони затримки росту 17,3±0,3 і 18,3±0,3 мм відповідно). Отримані під час дослідження *in vitro* результати дозволяють констатувати той факт, що серед досліджуваних зразків максимальну антибактеріальну активність по відношенню до тест-культури *Escherichia coli* ATCC 25922 має зразок №2 (зона затримки росту 20±0,6 мм), у той час як до зразків №1 і №3 культура виявилася лише чутливою (зони затримки росту 16,6±0,3 і 14,3±0,3 мм відповідно).

ВИСНОВКИ

1. Шляхом експериментального мікробіологічного дослідження *in vitro* обґрунтовано антибактеріальну та протигрибову активність досліджуваних зразків густих спиртових екстрактів, отриманих із лікарської рослинної сировини *Polygonum aviculare* L., *P.monspeliense* Thieb. ex Pers., *P.neglectum* Bees.

2. Встановлено, що всі використовувані тест-культури мікроорганізмів виявилися чутливими до досліджуваних зразків густих спиртових екстрактів.

3. Доведено, що висока антибактеріальна активність спостерігалася по відношенню до тест-культур *Pseudomonas aeruginosa*, а протигрибова — *Candida albicans*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волянський Ю.Л. Визначення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. рек. / Ю.Л.Волянський, І.С.Грищенко, В.П.Широбоков. — К., 2004. — 36 с.
2. Калиниченко Н.Ф. Определение активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций: Метод. рек. / Н.Ф.Калиниченко, Ю.Л.Волянський, З.Г.Старобимец. — Х., 1991. — 16 с.
3. Навашин С.М. Рациональная антибиотикотерапия: справочник / С.М.Навашин, И.П.Фомина. — М.: Медицина, 1982. — С. 496.
4. Олійник Г.В. Лікарські рослини. Фітотерапевтичний довідник / Г.В.Олійник, Л.В.Бензель, М.Л.Святиня, Г.В.Крамаренко. — К., 1999. — 312 с.
5. Прокудин Ю.Н. Определитель высших растений Украины / Ю.Н.Прокудин, Д.Н.Доброчаева, М.И.Котов. — 1-е изд. — К.: Наук. думка, 1987. — 545 с.
6. Sas-Piotrowska B. Evaluation of fungicidal action of plant extracts on damping-off fungi in sugarbeet / B.Sas-Piotrowska, W.Piotrowski // *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roslin.* — 1997. — Vol. 202. — P. 253-258.
7. Sas-Piotrowska B. The growth and development of potato pathogens on the media with extracts from Polygonaceae plants. 2. Pathogens causing tuber diseases / B.Sas-Piotrowska, W.Piotrowski // *Biuletyn Instytutu Ziemiaka.* — 1997. — Vol. 48. — P. 91-99.
8. Yildirim A. Antioxidant and antimicrobial activities of *Polygonum cognatum* Meissn extracts / A.Yildirim, A.Mavi, A.A.Kara // *J. Sci. Food. Agric.* — 2003. — Vol. 83. — P. 64-69.

Н.Л.Кольчева, Т.Н.Силина, В.Н.Одинцова, А.В.Мазулин. Сравнительная характеристика результатов исследования антимикробной активности густых спиртовых экстрактов, полученных из травы горца обыкновенного (Polygonum aviculare L.), незамечаемого (P.neglectum bees) и монпельйского (P.monspeliense Thieb. ex Pers.). Запорожье, Украина.

Ключевые слова: трава, густой спиртовой экстракт, горец, антимикробная активность, метод диффузии в агар.

В эксперименте *in vitro* методом диффузии в агар исследована антимикробная активность густых спиртовых экстрактов, полученных из травы горца обыкновенного, незамечаемого и монпельйского, по отношению к эталонным тест-культурам микроорганизмов. Установлено, что все используемые штаммы оказались чувствительными к исследуемым экспериментальным образцам. Высокую антимикробную активность все без исключения экстракты проявляют относительно *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans*.

N.L.Kolycheva, T.N.Sylina, V.N.Odintsova, A.V.Mazulin. *The investigation of antimicrobial activity of dense alcohol extracts obtained*

from polygonum herb (Polygonum aviculare L., P.neglectum bees., P.monspeliense Thieb. ex Pers.). The comparative study of results. Zaporizhzhya, Ukraine.

Key words: herb, dense alcohol extract, Polygonum, antimicrobial activity, diffusion test.

Antimicrobial activity of dense alcohol extracts obtained from Polygonum herb (*Polygonum aviculare* L., *P.monspeliense* Thieb. ex Pers., *P.neglectum* Bees.) against test-cultures of microorganisms has been investigated in experiment *in vitro* using diffusion test. It has been established that all used strains appeared to be sensitive to experimental examples. All the extracts have a high antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*.

Надійшла до редакції 31.10.2010 р.