ПРОТИГРИБКОВА АКТИВНІСТЬ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ РОСЛИН РОДУ *GALIUM*. Повідомлення 2

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

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України»
Національний фармацевтичний університет*

Ключові слова: підмаренники; етилацетатно-спиртові фракції; гриби роду Candida; протигрибкова активність; фенольні сполуки; терпеноїди

Досліджено протигрибкову активність етилацетатно-спиртових (8:2) фракцій підмаренника справжнього (Galium verum L.), підмаренника верболистого (Galium salicifolium Klok.) та підмаренника хрещатого (Galium cruciata (L.) Scop.) по відношенню до 10 видів грибів роду Candida: C. albicans ATCC 885/653, C. parapsilosis 488/10, C. yamata (Debariomyces hansenii) 40 b/3, C. rugosa Скляр 27, C. tropicalis F-195, C. tropicalis 195, C. utilis (Pichajadinii) CCTM 991, C. intermedia Y-59, C. intermedia ATCC 14439 та C. glabrata 1712. Етилацетатно-спиртова фракція підмаренника справжнього проявила активність по відношенню до 10 використаних тест-культур, підмаренника хрещатого — до 8 тест-культур, підмаренника верболистого — до 5 тест-культур. Результати експерименту створюють передумови для створення на основі етилацетатно-спиртових фракцій трави підмаренників справжнього, хрещатого та верболистого засобів протигрибкової дії.

Продовжуючи вивчення протигрибкової активності ліпофільних фракцій рослин роду *Galium* [4], ми отримали етилацетатно-спиртові (8:2) фракції трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*G. salicifolium* Klok.) та підмаренника хрещатого (*G. cruciata* (L.) Scop.).

Метою даної роботи стало дослідження протигрибкової активності етилацетатно-спиртових фракцій підмаренників (*Galium* L.) родини маренові (*Rubiaceae* Juss.) по відношенню до найбільш вагомих у епідеміологічному значенні штамів грибів роду *Candida* [6-11].

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були етилацетатно-спиртові фракції, отримані методом послідовної вичерпної циркуляційної екстракції сировини в апараті Сокслета етилацетатно-спиртовою сумішшю (8:2) після її попереднього знежирення хлороформом із зразків повітряно-сухої трави підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.) та підмаренника хрещатого (*Galium cruciata* (L.) Scop.), заготовлених у фазу цвітіння влітку 2010 р.

Протигрибкову активність фракцій вивчали на 10 тест-штамах грибів роду *Candida*: *C. albicans* ATCC 885/653, *C. parapsilosis* 488/10, *C. yamata (Debariomyces hansenii)* 40 *b*/3, *C. rugosa* Скляр 27, *C. tropicalis F*-195, *C. tropicalis* 195, *C. utilis (Pichajadinii)* CCTM 991, *C. intermedia Y*-59, *C. intermedia* ATCC 14439 та *C. glabrata* 1712.

Дослідження протигрибкової активності проводилось методом дифузії в агар (метод "колодязів") [5]. Ступінь чутливості грибів щодо досліджуваних фракцій оцінювали за розміром зон затримки росту. Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і визначалось візуально за оптичним стандартом каламутності McFarland.

Для визначення протигрибкової активності субстанцій використовували середовище Сабуро. Кожну серію поживного середовища якісно та кількісно контролювали згідно з нормативними документами.

Як препарат порівняння використовували хлорофіліпт (1% спиртовий розчин) та антимікотик групи триазолів флуконазол (200 мг/мл). Результати досліджень статистично оброблялись за С. Гланц [1].

Результати та їх обговорення

Раніше при вивченні складу етилацетатно-спиртових фракцій було встановлено наявність фенолкарбонових кислот та флавоноїдів [3]. Виявлено, що загальними для всіх фракцій є хлорогенова кислота та рутин. Сполуки терпенової природи представлені ациклічними, моноциклічними та біциклічними монотерпеноїдами [2].

У результаті експерименту (табл. 1) було встановлено, що препарат порівняння флукона-

Н.В.Кашпур — молодший науковий співробітник лабораторії імунореабілітології ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України» (м. Харків)

О.В.Горяча — аспірант кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Таблиця 1

Антимікотична активність етилацетатно-спиртових фракцій видів роду *Galium* L., *n* = 6

Тест-культура	Затримка росту мікроорганізмів, мм (M±m)				
	Galium verum	Galium salicifolium	Galium cruciata	флуконазол	хлорофіліпт
C. albicans ATCC 885/653	15,2±0,2	*	12,0±0,1	15,2±0,2	16,1±0,5
C. parapsilosis 488/10	15,0±0,1	*	16,0±0,1	15,0±0,1	19,2±0,6
C. yamata (Debariomyces hansenii) 40 *b*/3	19,2±0,6	24,1±0,3	*	19,2±0,6	17,1±0,5
C. rugosa Скляр 27	16,1±0,2	23,1±0,3	15,2±0,3	16,1±0,2	19,2±0,6
C. tropicalis F-195	16,0±0,5	*	18,1±0,4	16,0±0,5	*
C. tropicalis 195	16,0±0,3	*	16,1±0,2	16,0±0,3	*
C. utilis (Pichajadinii) CCTM 991	10,0±0,1	22,0±0,4	10,0±0,1	10,0±0,1	*
C. intermedia Y-59	18,0±0,4	24,0±0,1	10,0±0,1	18,0±0,4	*
C. intermedia ATCC 14439	18,1±0,2	19,0±0,3	12,0±0,3	18,1±0,2	*
C. glabrata 1712	10,0±0,2	*	*	10,0±0,2	*

Примітка:
1) * — затримка росту відсутня;
2) n = 6 — кількість повторень експерименту для кожного мікроорганізму.

зол є активним по відношенню до усіх тест-штамів, окрім *Candida glabrata;* до хлорофіліпту чутливими виявились лише 4 види: *C. albicans, C. parapsilosis, C. yamata* та *C. rugosa.*

Етилацетатно-спиртові фракції мають різний ступінь антифунгальної активності по відношенню до використаних тест-культур грибів.

Етилацетатно-спиртова фракція підмаренника справжнього проявила антимікотичну дію на рівні флуконазолу по відношенню до всіх використаних тест-штамів. Помірну чутливість проявили *C. albicans, C. parapsilosis, C. yamata, C. rugosa,* тест-штами *C. tropicalis* та *C. intermedia.* Малочутливими до обраної концентрації фракції виявилися *C. utilis* та *C. glabrata.*

Етилацетатно-спиртова фракція підмаренника верболистого за рівнем дії значно перевищує флуконазол по відношенню до *C. yamata, C. rugosa, C. utilis,* обох штамів *C. intermedia.* По відношенню до *C. albicans, C. parapsilosis,* обох штамів *C. tropicalis* та *C. glabrata* спостерігалась відсутність затримки росту, що вказує на нечутливість цих тест-культур до етилацетатно-спиртової фракції підмаренника верболистого.

Етилацетатно-спиртова фракція підмаренника хрещатого

Таблиця 2

Залежність між вмістом БАР у етилацетатно-спиртових фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності (у коефіцієнтах кореляції)

БАР	*C. albicans* ATCC 885/653	*C. parapsilosis* 488/10	*C. tropicalis* F-195	*C. tropicalis* 195	*C. utilis (Pichajadinii)* CCTM 991	*C. intermedia Y*-59	*C. rugosa* Скляр 27	*C. glabrata* 1712
Сума терпенових спиртів	1,00	0,95	0,93	0,96	-0,96	*	-0,93	*
Стероїдні спирти	0,96	1,00	1,00	1,00	-1,00	-0,86	*	*
Спирти	0,89	*	*	*	*	*	*	0,93
Жирні кислоти	0,96	0,86	*	0,89	-0,90	*	*	*
Гідроксикоричні кислоти	0,92	0,93	0,89	0,94	*	*	*	*

Примітка: * — коефіцієнт кореляції нижче 0,80.

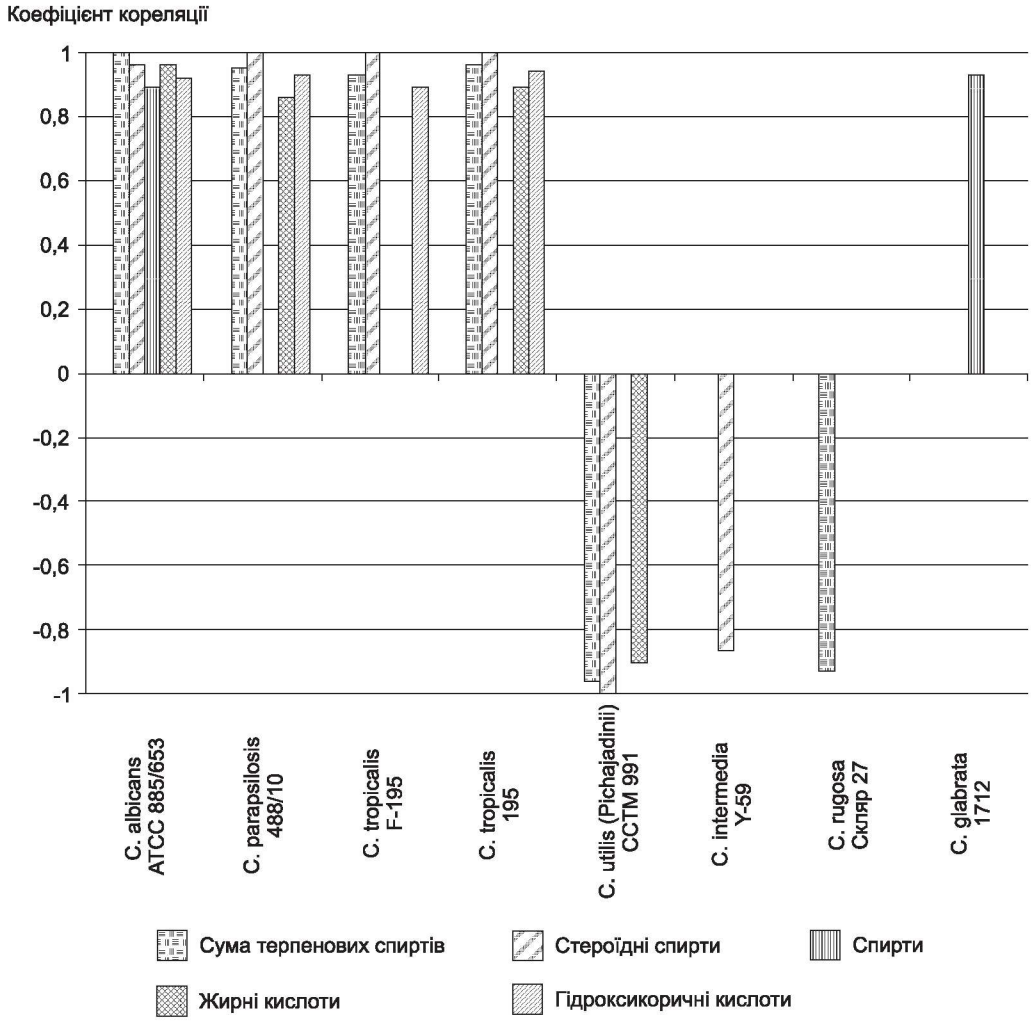

Рис. Кореляція між вмістом БАР у етилацетатно-спиртових фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності

проявила інгібуючий вплив на рівні флуконазолу на зростання культур *C. parapsilosis*, *C. rugosa*, *C. utilis* та обидва штами *C. tropicalis*. Малочутливими до фракції виявилися *C. albicans*, обидва штами *C. intermedia*. Для *C. yamata* та *C. glabrata* спостерігалась відсутність затримки зони росту.

При порівняльному аналізі хімічного складу етилацетатно-спиртових фракцій та їх протигрибкової активності виявлено як пряму, так і зворотну залежність між вмістом основних груп біологічно активних речовин (БАР) та рівнем протигрибкової дії по відношенню до ряду тест-штамів (табл. 2, рис.).

Спостерігається пряма залежність: між вмістом терпенових спиртів (в тому числі і стероїдних спиртів), вмістом гідроксикоричних кислот у фракціях досліджуваних видів та ступенем їх активності по відношенню до *C. albicans* ATCC 885/653, *C. parapsilosis* 488/10 та обох штамів *C. tropicalis;* жирних кислот — до *C. albicans* ATCC 885/653, *C. parapsilosis* 488/10 та *C. tropicalis* 195; суми спиртів — до *C. albicans* ATCC 885/653 та *C. glabrata* 1712.

Виявлено зворотну залежність між вмістом терпенових спиртів (у тому числі і стероїдних спиртів), жирних кислот та ступенем їх активності по відношенню до *C. utilis (Pichajadinii)* CCTM 991; стероїдних спиртів — до *C. intermedia Y*-59; суми терпенових спиртів — до *C. rugosa* Скляр 27.

ВИСНОВКИ

1. Вперше досліджено протигрибкову активність етилацетатно-спиртових (8:2) фракцій підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.) та підмаренника хрещатого (*Galium cruciata* (L.) Scop.) по відношенню до грибів роду *Candida*.

2. Етилацетатно-спиртова фракція підмаренника справжнього проявила активність по відношенню до 10 використаних тест-культур, підмаренника хрещатого — по відношенню до 8 тест-культур, підмаренника верболистого — до 5 тест-культур.

3. Фракція, отримана з трави підмаренника верболистого, виявила більшу активність,

ніж референс-препарати; фракція з підмаренника справжнього — на рівні флуконазолу; фракція з підмаренника хрещатого — дещо меншу активність по відношенню до обох штамів *C. intermedia,* до решти штамів — активність на рівні флуконазолу.

4. Результати експерименту створюють передумови створення на основі етилацетатно-спиртових фракцій трави підмаренників справжнього, хрещатого та верболистого засобів протигрибкової дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. — М.: Практика, 2001. — 459 с.*
2. *Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В. // Укр. біофармац. журн. — 2009. —№5 (5). — С. 31-36.*
3. *Ильина Т.В., Ковалева А.М., Горячая О.В. // VII международный симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты: Матер. докл., 19-23 октября 2009 г. — М.: Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2009. — С. 105-107.*
4. *Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // Клінічна фармація. — 2011. — Т. 15, №4. — С. 50-53.*
5. *Решедько Г.К., Стецюк О.У. // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотерапия. — 2001. — Т. 3, №4. — С. 348-355.*
6. *Badiee Parisa, Alborzi Abdolvahab, Davarpanah Mohammad Ali, Shakiba Elaheh // Archives of Iranian Medicine. — 2010. — Vol. 13, №4. — P. 282-287.*
7. *Broglie M.A., Tinguely M., Holzman D. // Rhinol. — 2009. — Vol. 47, №4. — P. 379-384.*
8. *Hoenigl M., Zollner-Schwetz I., Linkesh W. et al. // Mycoses. — 2010. — №6. — P. 34-39.*
9. *Hofling J.F., Anibal P.C., Obando-Pereda G.A. et al. // Braz. J. Biol. — 2010. — Vol. 70, №4. — P. 1065-1068.*
10. *Ngono Ngane A., Ebelle Etame R., Ndifor F. et al. // Chemotherapy. — 2006. — Vol. 52, №2. — P. 103-106.*
11. *Pawlik B., Macura A.B., BialekKaleta J. // Med. Dosw. Microbiol. — 2002. — Vol. 54, №3. — P. 27-39.*

Адреса для листування: 61168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-92-08.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 16.12.2011 р.