

ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ФІТОЗАСОБІВ НА ОСНОВІ ЕХІНАЦЕЇ БЛІДОЇ

В.С.Кисличенко, Я.В.Д'яконова, Т.П.Осолодченко*, О.М.Кошовий

Національний фармацевтичний університет
Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова*

Ключові слова: ехінацея бліда; сухий екстракт; антимікробна активність; водорозчинний полісахаридний комплекс

Проведено вивчення антимікробної активності водорозчинного полісахаридного комплексу з коренів, сухих екстрактів 1:10 водних з коренів та трави ехінацеї блідої сорту "Красуня прерій". Встановлено, що відповідні розчини сухих екстрактів та водорозчинного полісахаридного комплексу з коренів ехінацеї блідої характеризуються бактеріостатичними та бактерицидними властивостями. Досліджувані екстракти та водорозчинний полісахаридний комплекс мають антимікробні властивості у відношенні грампозитивних мікроорганізмів та дріжджових грибів роду *Candida*. При цьому сухий екстракт 1:10 водний з трави відрізняється більш вираженою антимікробною активністю у відношенні регламентованих Державною фармакопеєю України I референтних штамів. За даними мікробіологічних досліджень сухі водні екстракти 1:10 з трави та коренів і водорозчинний полісахаридний комплекс з коренів ехінацеї блідої перспективні для перорального застосування при терапії інфекцій верхніх дихальних шляхів, інфекцій, спричинених грибами роду *Candida*, а також для технологічного відтворення відповідних лікарських форм для зовнішнього застосування при лікуванні ран, екзем, трофічних виразок, опіків.

Види роду *Echinacea Moench* привертають увагу дослідників уже протягом кількох століть завдяки своїм лікувальним властивостям. Ехінацея відома і широко використовується в світі, в першу чергу, як стимулятор неспецифічної та специфічної резистентності. Перелік захворювань, у лікуванні яких успішно використовується ехінацея, перевищив сімдесят найменувань. У літературі є дані про ефективність фармакотерапевтичної дії препаратів ехінацеї при лікуванні онкологічних захворювань у комплексі з хіміотерапією, хронічних інфекцій верхніх дихальних шляхів, ревматоїдного артриту, хронічних неспецифічних захворювань легень, інфекцій, спричинених грибами роду *Candida*, місцево при — лі-

куванні ран, екземи, трофічних виразок, опіків, нориці, псоріазу. Є свідчення про доцільність її застосування при лікуванні простатиту, тромбофлебіту, поліоміеліту, ерозивно-виразкових уражень гастродуоденальної системи, токсичного гепатиту, захворювань нирок, ендокринних хвороб, хронічних гінекологічних захворювань, в отоларингології (ангіна, тонзиліт), остеопорозу, при укусах комах та гадюк [3]. Ехінацея містить речовини, які мають антибактеріальну дію. Ця дія посилюється завдяки речовинам, які стимулюють неспецифічні захисні сили організму, допомагаючи тим самим при інфекційних захворюваннях [5]. Все вищезазначене пояснює, чому лікувальний ефект сумарних витяжок ехінацеї

(настоянок, екстрактів, консервованого соку) більш високий, ніж застосування індивідуальних речовин, виділених з ехінацеї у вигляді різноманітних лікарських форм.

На теперішній час медичне і промислове значення мають тільки три види роду: ехінацея пурпуррова (*Echinacea purpurea* (L.) Moench), вузьколиста (*Echinacea angustifolia* DC) і бліда (*Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt) [7, 8, 9, 10]. В Україні найбільш поширеною є ехінацея пурпуррова, з сировини якої розроблена велика кількість лікарських препаратів, косметичних засобів, біологічно активних добавок і т. ін. Однак у США, Канаді, Великобританії, Італії, Німеччині та інших країнах світу все більшу увагу приділяють ехінацеї вузьколистій та ехінацеї блідії. Цікаво і те, що американські індіанці з лікарською метою використовували ехінацею бліду [6]. Розмочене коріння було головним засобом для лікування людей, що отруїлися, чи тих, кого вкусили комахи, гrimучі змії або

В.С.Кисличенко — доктор фармац. наук, професор, завідувачка кафедри хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Т.П.Осолодченко — канд. біол. наук, завідувачка лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова (м. Харків)

Таблиця 1

Дослідження антимікробної активності фітозасобів на основі ехінацеї блідої методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі

Мікроорганізми	МГК, млг/мл		
	ВРПС	екстракт з коренів	екстракт з трави
St.aureus 25923 ATCC	45-50	40-50	50-60
E.coli 25922 ATCC	50-55	50-70	50-60
P.vulgaris 4636 NCTC	ріст	ріст	ріст
P.aeruginosa 27853ATCC	ріст	ріст	ріст
C.albicans 885/653ATCC	40-50	55-65	50-55
Str.pyogenes 2432ATCC	50-60	40-60	40-50
St.aureus 4а (клінічний)	50-55	ріст	50-70
St.aureus 4б (клінічний)	40-50	50-55	45-55
Str.pyogenes 5в (клінічний)	50-60	45-50	ріст
Str.pyogenes 7а (клінічний)	ріст	50-70	40-50

інші тварини. Рани, які довго не загоювалися, посипали посіченим свіжим або розмоченим висушеним корінням. Ця інформація і спонукала нас до вивчення антимікробної активності отриманих нами фітозасобів з ехінацеї блідої.

Метою дослідження було вивчення антимікробної активності сухих екстрактів 1:10 з коренів і трави ехінацеї блідої, отриманих методом дробної мацерації гарячою водою, і водорозчинного полісахаридного комплексу (ВРПС) з коренів ехінацеї блідої.

Матеріали та методи

Для вивчення антимікробної активності фітозасобів на основі ехінацеї блідої було використано метод послідовних розведень у рідкому поживному середовищі та метод дифузії в агар. Дослідження проводились на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова в лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ під керівництвом канд. біол. наук Осолодченко Т.П. [1, 2, 4].

Відповідно до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували референс-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* NCTC

4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885/653. Дослідження проводили на середовищі виробництва НВО “Поживні середовища” МОЗ Російської Федерації відповідно до вимог виробника.

Метод серійних розведень, що використовувався, дозволяв дати кількісну оцінку антимікробної активності досліджуваних препаратів. М'ясо-пептонне поживне середовище розливали в 10 пробірок по 2 мл. У першу пробірку додавали 2 мл приготовлених розчинів досліджуваних об'єктів, перемішували, забирали 2 мл і переносили в наступну пробірку і так далі. З останньої пробірки зливали 2 мл суміші. У кожну пробірку, включаючи контрольну, вносили по 0,2 мл приготовленої культури з розрахунком 10^7 - 10^8 КУО/мл. Стандарт посівної культури встановлювали за оптичним стандартом каламутності ДІКС ім. Л.О.Тарасевича. Посіви вміщували у термостат на 18-24 год при 37°C. Результати відмічали за наявністю або відсутністю помутніння середовища у пробірках, що містять різні розведення дослідного екстракту. Концентрація препарату в останній пробірці із прозорим середовищем (відсутність росту тест-мікроба) відповідає мінімальній при-

гнічуючої концентрації препарата (МПК).

Для визначення бактерицидної концентрації з 2-3 останніх пробірок із прозорим середовищем (відсутність видимого росту) робили висів 0,1 мл вмісту на чашки зі щільним поживним середовищем або у пробірки з бульйоном. Інкубування проводили протягом 18-24 год при 37°C і відзначали ту мінімальну концентрацію препарату, посів з якої не давав росту на агарі або в бульйоні. Ця кількість препарату відповідала його мінімальній бактерицидній концентрації.

У досліді використовували 6 стандартних (музейних) штамів мікроорганізмів і 4 штамів клінічних, отриманих від хворих із запальними захворюваннями. Продовили по шість випробувань (n=6).

Дифузію екстракту в агар проводили методом “колодязів”. Визначення активності екстракту проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого у чашки Петрі. У нижньому шарі використовували “голодні” не засіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар являв собою підкладку висотою 10 мм, на яку строго горизонтально встановлювали 3-6 тонкостінних циліндри з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався з поживного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до 40°C, в яке вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Попередньо верхній шар добре перемішувався до утворення однорідної маси. Після застигання цилінди стерильним пінцетом витягали з лунки, що утворювалася, вносили випробувану речовину з урахуванням її об'єму. Товщина середовища для верхнього шару коливалася від 14 до 16 мм. Чашки підсушували протягом 30-40 хв при кімнатній температурі та ставили в термостат на 18-24 год.

У досліді (n=6) використовувалися 4 стандартних (музейних) штамів мікроорганізмів і 4 штами клінічних, отриманих від хворих

Таблиця 2

Дослідження антимікробної активності фітозасобів на основі ехінацеї блідої методом дифузії в агар і методом дисків

Мікроорганізми	Діаметр зон затримки росту, мм		
	5% розчин ВРПС	5% розчин екстракту з коренів	5% розчин екстракту з трави
St.aureus 25923 ATCC	14,5±0,1	14,0±0,1	16,5±0,2
E.coli 25922 ATCC	12,5±0,1	12,5±0,3	12,0±0,2
C.albicans 885/653 ATCC	13,0±0,2	11,5±0,1	13,0±0,1
Str. pyogenes 2432 ATCC	14,5±0,1	15,0±0,2	14,0±0,1
St.aureus 4 а (клінічний)	14,5±0,2	ріст	16,5±0,1
St.aureus 4 б (клінічний)	15,0±0,2	13,5±0,2	12,5±0,3
Str.pyogenes 5 в (клінічний)	14,0±0,1	14,0±0,1	ріст
Str.pyogenes 7 а (клінічний)	ріст	14,5±0,3	13,5±0,1

із запальними захворюваннями (табл. 2). Препарат розчиняли у 0,9% NaCl. Дослідна речовина являла собою концентрований 5% розчин для ВРПС та екстрактів.

При оцінці нових антибактеріальних речовин, а також при вивчені антибіотикорезистентних штамів застосовували такі критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм, що вказує на те, що мікроорганізм нечутливий до внесеного в лунку препарату або концентрації антибіотика;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм, що вказують на низьку чутливість культури до випробованої концентрації антибактеріальної речовини;

- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розрінюються як показник чутливості мікроорганізму до випробованого лікарського засобу;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваних препаратів.

Результати та їх обговорення

У результаті дослідження було встановлено, що мікроорганізми *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* чутливі до ВРПС з коренів, сухих екстрактів з коренів і трави ехінацеї блідої. *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aerugi-*

ginosa виявили резистентність відносно досліджуваних фітозасобів. Встановлено, що екстракт з трави ехінацеї блідої має більш виражену антимікробну активність. Таким чином, ВРПС з коренів, сухі екстракти з коренів і трави ехінацеї блідої перспективні для перорального застосування при терапії інфекцій верхніх дихальних шляхів, інфекцій, спричинених грибами роду *Candida*, а також для технологічного відтворення відповідних лікарських форм для зовнішнього застосування при лікуванні ран, екзем, трофічних виразок, опіків. Результати дослідження представлені в табл. 1 та 2.

ВИСНОВКИ

1. Проведене вивчення антимікробних властивостей розчинів сухих екстрактів 1:10 з коренів і трави ехінацеї блідої і водорозчинного полісахаридного комплексу (ВРПС) з коренів ехінацеї блідої.

2. Встановлено, що сухий екстракт 1:10 з трави ехінацеї блідої має більш виражену антимікробну активність, ніж сухий екстракт 1:10 і водорозчинний полісахаридний комплекс з коренів ехінацеї блідої у відношенні грампозитивних мікроорганізмів та *C. albicans*.

3. Дані експерименту будуть використані при розробці відповідних розділів аналітичної нормативної документації на фітозасоби, отримані на основі ехінацеї блідої.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод рекоменд. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова. — К.: Здоров'я, 2002. — С. 79-95, 292-306.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — 1-е вид. — Х.: PIPEГ, 2001. — 556 с.
3. Калугін В.О., Волошина Л.О., Геруш І.В. та ін. //Фітомедична практика. Часопис. — 2002. — №1-2. — С. 12-17.
4. Мазулин Г.В., Герасимов В.Н., Мазулин А.В. //Сборник “Лекарство – человеку”. — Х., 2002. — Т. 18, №3. — С. 37-39.
5. Палов М. Энциклопедия лекарственных растений / Пер. с нем. под ред. И.А.Губанова. — М.: Мир, 1998. — 467 с.
6. Bauer R., Wagner H. Echinacea Handbuch fuer Aerzte, Apotheker und andere Naturwissenschaftler. — Stuttgart, 1990. — S. 182.
7. Foster S. Echinacea Nature's Immune Enhancer. — Rochester. — Vermont, 1991. — P. 150.

8. McGregor R.L. //Univ. Kansas. Sci. Bull. — 1968. — Vol. 48, №4. — P. 113-142.
9. Sandra Carol Miller Echinacea: the genus Echinacea. — CRC Press LLC, 2004. — P. 276.
10. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. — Vol. 1. — Geneva, 1999. — P. 136-144.

Адреса для листування: 61000, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (0572) 67-93-63.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 29.01.2008 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, діючиою речовиною якого є **кларитроміцин** (Антимікробні засоби для системного застосування. Макроліди та лінкозаміди. Код ATC J01F A09)

Хворому К. (60 років) з діагнозом виразкова хвороба 12-палої кишki активна фаза було призначено препарат, діючиою речовиною якого є кларитроміцин (перорально по 500 мг 2 рази на добу). Одночасно хворий приймав контролок, далартін. Через 2 години після третього прийому препарату, діючиою речовиною якого є кларитроміцин, у хворого з'явились еритематозні висипання. Препарат було відмінено. Реакцію купірували за допомогою преднізолону. Через дві доби після відміни препарату, діючиою речовиною якого є кларитроміцин, на тлі коригуючої терапії зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Дніпропетровського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України (Дніпропетровська МКЛ №4).

Про підозрювану побічну дію препарату, діючиою речовиною якого є **цинаризин** (Засоби, що застосовуються при вестибулярних порушеннях. Код ATC N07C A02)

Хворій Л. (48 років) на гіпertonічну хворобу було застосовано препарат, діючиою речовиною якого є цинаризин (перорально по 25 мг 3 рази на добу). Після 8-го прийому препарату, діючиою речовиною якого є цинаризин, у хворої розвинувся набряк обличчя. Одночасно хвора приймала енап, предуктал. Препарат, діючиою речовиною якого є цинаризин, було відмінено, реакцію купірували за допомогою діазоліну. Після вжитих заходів зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Сумського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України (Шосткінська ЦРЛ).

Про підозрювану побічну дію препарату, діючиою речовиною якого є **пентоксифілін** (Периферичні вазодилататори. Код ATC C04A D03)

Хворому К. (60 років) з діагнозом дисциркуляторна енцефалопатія I-II типу було застосовано препарат, діючиою речовиною якого є пентоксифілін (внутрішньовенно крапельно по 100 мг 1 раз на добу). На другу добу після першого введення препарату у хворого виник біль у суглобах. Одночасно хворий приймав пірацетам, кислоту нікотинову, магнію сульфат, актовегін. Після відміни препарату, діючиою речовиною якого є пентоксифілін, зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Черкаського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України (Золотоніська ЦРЛ).