

Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дрогоров

УДК 615:582.772.3:636.087.21

ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ ТА СЕЧОГІННОЇ ДІЇ ЕКСТРАКТУ ІЗ ЛИСТЯ ГРУШІ ЗВИЧАЙНОЇ

Л.В.Яковлева, В.С.Кисліченко, А.О.Самохін, О.М.Новосьол, Л.Ф.Сілаєва

Національний фармацевтичний університет

Досліджена антимікробна та сечогінна дія екстракту із листя груші звичайної. Антимікробну активність екстракту вивчали загальноприйнятим у мікробіологічній практиці методом дифузії в агар, сечогінну дію вивчали на самцях щурів. Встановлено, що досліджуваний зразок екстракту листя груші виявляє широкий спектр антимікробної активності та має нетривалу діуретичну дію, що свідчить про доцільність його подальшого дослідження на моделях запальних захворювань сечовидільної системи та використання як рослинної сировини для одержання екстракту і розробки нового препарату.

Арсенал фітопрепаратів, які мають антимікробну та сечогінну дію, досить обмежений. Добре відомо, що такі властивості мають настої з листя мучниці звичайної, у яких діючою речовиною є глюкозид арбутин. Однак використання листя даної рослини є економічно не вигідним через незначне поширення даного виду в Україні. Більш доступною рослинною сировиною, яка містить арбутин, є листя груші звичайної (*Rugus communis* L.) сімейства розоцвітних (*Rosaceae*), що поширеного на всій території України. У народній медицині використовуються плоди груші для лікування різних запальних процесів, особливо запалення сечостатевої системи, що обумовлено вмістом у плодах груші різних груп біологічно активних речовин (БАР) [1, 2]. Високий вміст калію робить грушу добрим сечогінним засобом. З літературних джерел відомо, що листя груші містить вуглеводи, аскорбінову кислоту, різні класи фенольних сполук [4, 5], але його фітохімічний склад вивчений недостатньо. Попередні фітохімічні дослідження Кисліченко В.С. і Новосьол О.М. показали, що в листі груші міститься значна кількість арбутину, що підтвердило доцільність поглибленого вивчення листя груші звичайної як антисептичного засобу при запаленні сечовидільної системи та його використання як рослинної сировини для одержання екстракту і розробки нового препарату.

Матеріали та методи

На кафедрі фармакогнозії НФаУ був отриманий рідкий водно-спиртовий екстракт листя груші (ЕЛГ) звичайним методом мацерації у співвідношенні речовина — екстрагент 1:5. Для стандартизації і розробки аналітичної нормативної документації на рідкий екстракт груші були визначені деякі технологічні та аналітичні параметри за ДФУ: питома вага — 1,11 г/см³; сухий залишок — 24,3%; вміст етанолу — 1,9% і кількісний вміст основних діючих речовин: арбутину — 2,06%; флавоноїдів — 1,02%; дубильних речовин — 6,24%; оксикоричних кислот — 2,88%. Антимікробну активність ЕЛГ вивчали загальноприйнятим у мікробіологічній практиці методом дифузії в агар (%) [3]. Вибір тест-штамів проводили з урахуванням етіологічної структури збудників захворювань сечостатевої системи. Як тест-штами використовували еталонні штами мікроорганізмів з американської типової колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 і клінічні штами *Staphylococcus aureus* кл. 17 і *Escherichia coli* кл. 78, виділені з матеріалу хворих із гнійно-запальними захворюваннями сечостатевої системи. Досліди повторювали тричі у відношенні кожного штаму мікроорганізму. При проведенні досліджень із вивчення антибактеріальної активності екстракту з листя груші використовували м'ясо-пептонний агар на переварі Хоттінгера, що містить 120 мг% амінного азоту, при вивченні протигрибкової активності — щільне середовище Сабуро. Розплавлене поживне середовище розливали нижнім шаром у чашки Петрі однакового розміру, після чого за допомогою трафарету під кутом 120° один до одного розставляли три стерильних циліндри з нержавіючої сталі однакової маси та розміру (висота 10 мм, внутрішній діаметр 8 мм). Навколо циліндру заливали верхнім шаром розплавлений і охолоджений до 45°С поживний агар із внесеної в нього культурою мікроорганізму. Мікробне навантаження складало 5 · 10⁸ КОЕ/мол для грампозитивних та 10⁸ КОЕ/мол для грамотрибних бактерій і гриба *S. albicans*.

Таблиця 1

Антимікробна активність екстракту з листя груші

Препарат	Діаметр зони затримки росту мікроорганізму, мм						
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> клініч. №17	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. coli</i> клініч. №78	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653
Екстракт з листя груші	25,0±0,2	25,2±0,2	15,1±0,2	14,2±0,3	18,3±0,3	20,1±0,0	14,1±0,0

Примітка: в таблиці представлені дані 3-разового визначення активності екстракту з листя груші у відношенні кожного референс-штаму

Після застигання агару пінцетом витягали циліндри і в лунки, що утворилися, вносили досліджувані зразки екстракту з листя груші. Чашки витримували біля 2 годин при кімнатній температурі, після чого переносили до термостату та інкубували при 37°C (з посівами на МПА) і 25°C (з посівами на щільному середовищі Сабуро) протягом 24 годин. Рівень антибактеріального ефекту оцінювали за діаметром зони затримки росту мікроорганізму навколо лунки з внесеним препаратом, оцінюючи його за наступною шкалою: діаметр зони затримки росту мікроорганізму <14-15 — стійкий штам; 15—18 — слабо чутливий штам; >18 — чутливий штам.

При вивченні діуретичної дії екстракту була використана уніфікована методична схема, яка передбачає визначення в динаміці дії ЕЛГ відносної щільності сечі, показників, що характеризують стан солевидільної (хлориди, калій, натрій, кальцій сироватки крові і сечі) і азотовидільної функції нирок (рівень сечовини в крові і сечі). Самцям щурів протягом 2 тижнів вводили ЕЛГ у дозі 1,05 мл/кг, 2,1 мл/кг і 2,9 мл/кг. Тварини були розділені на 4 групи: контрольна і три дослідних. Показники функціонального стану щурів і вміст електролітів у сечі вивчали в перший день, через

1 і 2 тижні після початку експерименту. Для вивчення діуретичної дії в ці терміни контрольним тваринам вводили 5 мл дистильованої води, а дослідним — екстракт з листя груші в дозах 1,05 мл/кг, 2,1 мл/кг і 2,9 мл/кг і дистильовану воду до одержання кінцевої кількості рідини 5 мл. Вміст електролітів у сироватці крові визначали після декапітації тварин наприкінці експерименту.

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень показали, що досліджуваний зразок екстракту з листя груші має широкий спектр антимікробної активності, включаючи антибактеріальну і слабку протигрибкову (табл. 1). Порівняльна оцінка рівня антимікробної активності екстракту у відношенні вивчених тест-штамів свідчить про більш виражений ефект у відношенні культур грампозитивних бактерій — *S. aureus* (включаючи як музейні, так і клінічні штами) і *B. subtilis*. Так, діаметр зони затримки росту культур зазначених бактерій навколо лунок із внесеними зразками екстракту з листя груші склав 25,0-25,2 мм для культур *S. aureus* і 20,1 мм для культури *B. subtilis*, що значно вище у порівнянні з діаметрами затримки росту культур грамнегативних бактерій — *E. coli*, *P. aeruginosa* і гриба *C. albicans*, які склали 15,1-18,3-14,1 мм від-

Таблиця 2

Показники функціонального стану нирок щурів при введенні екстракту з листя груші

Час	Доза препарату	Діурез, мл	pH	Сечовина, ммоль · л ⁻¹	Хлориди, ммоль · л ⁻¹	Густина, г/см ³	Креатинін, ммоль · л ⁻¹
1 день	Контроль	1,45±0,19	7,17±0,17	11,4±1,3	32,5±2,2	0,95±0,01	0,046±0,007
	1,05мл/кг	3,63±0,62*	6,83±0,21	13,4±1,9	38,4±2,1	0,97±0,03	0,058±0,01
	2,1 мл/кг	1,45±0,18	7,00±0,50	15,7±3,1	47,9±6,2	0,95±0,01	0,108±0,022*
	2,9 мл/кг	3,42±0,77*	7,50±0,22	9,32±0,49	35,8±1,1	0,96±0,01	0,039±0,006
1 тиждень	Контроль	3,12±0,70	8,17±0,11	10,8±1,3	27,7±0,4	0,98±0,01	0,035±0,005
	1,05мл/кг	3,62±1,22	7,00 ±0,26*	12,3±1,2	26,9±0,4	0,95±0,01	0,036±0,003
	2,9 мл/кг	3,62±1,22	7,60±0,24	11,6±0,6	34,7±2,7*	0,95±0,01	0,033±0,009
2 тижні	Контроль	3,62±0,61	8,00±0,37	29,5±4,7	26,6±1,2	0,96±0,01	0,019±0,006
	1,05мл/кг	1,24±0,32*	7,60±0,19	40,7±4,3	30,8±1,2*	0,96±0,01	0,034±0,011
	2,1 мл/кг	2,84±0,07	7,80±0,41	33,5±6,4	26,4±1,7	0,94±0,01*	0,024±0,005
	2,9 мл/кг	2,58±0,64	8,00±0,46	33,5±4,9	34,1±2,1*	0,96±0,01	0,058±0,022

* — достовірні зміни у відношенні до контролю

Таблиця 3

Вплив екстракту з листя груші на вміст електролітів у сечі

Час		K ⁺ , ммоль · л ⁻¹	Na ⁺ , ммоль · л ⁻¹
1 день	Контроль	8,32 ± 2,19	3,94 ± 0,56
	1,05 мл/кг	30,14 ± 8,34*	7,75 ± 2,86
	2,1 мл/кг	55,45 ± 16,79*	15,37 ± 3,57*
	2,9 мл/кг	48,32 ± 1,36*	11,08 ± 0,64*
1 тиждень	Контроль	4,62 ± 1,42	4,39 ± 1,44
	1,05 мл/кг	2,86 ± 1,06	0,74 ± 0,33*
	2,9 мл/кг	3,87 ± 1,93	5,39 ± 23,47
2 тижні	Контроль	6,98 ± 1,52	2,71 ± 0,53
	1,05 мл/кг	20,45 ± 14,36	1,41 ± 0,36
	2,1 мл/кг	14,36 ± 5,10	2,96 ± 1,59
	2,9 мл/кг	16,27 ± 4,74	3,60 ± 1,80

* — достовірні зміни у відношенні до контролю

повідно. При цьому виявлена тенденція до зниження активності екстракту у відношенні клінічного штаму *E. coli* в порівнянні з музейним. Серед культур грамнегативних бактерій найбільш виражений ефект виявлений у відношенні культури *P. aeruginosa*. Виявлену антимікробну дію екстракту з листя груші можна пояснити наявністю в листі груші фенологікозиду — арбутину, вміст якого досягає 0,0004-0,0015% [6], а в отриманому екстракті складає 2,06%. Арбутин (4-гідроксифеніл-β-глюкопіранозид) накопичується у високих концентраціях у листці рослин, стійкому до холоду і низького вмісту вологи в повітрі. Встановлено, що арбутин може інгібувати лізис мембран, індукований вільними радикалами і ферментами, і вважається, що в такий спосіб арбутин сприяє стабілізації мембран у клітинах цих рослин [7, 12-14]. Із літератури відома здатність арбутину інгібувати ріст грам позитивних бактерій *Listeria monocytogenes* через інгібування експресії ключового фактора його вірулентності — лістеріолізину O на рівні транскрипції [15, 17], а також його здатність пригнічувати розвиток запальних реакцій [8, 9, 16].

Результати другого етапу роботи: дослідження функціонального стану щурів при введенні екстракту з листя груші наведені в табл. 2-5. Через 3 год після введення екстракту спостерігалось збільшення діурезу при дії доз 1,05 і 2,9 мл/кг, збільшення кількості креатиніну в сечі при дозі

Таблиця 4

Вплив екстракту з листя груші на вміст електролітів у сироватці крові

	K ⁺ , ммоль · л ⁻¹	Na ⁺ , ммоль · л ⁻¹	Ca ²⁺ , ммоль · л ⁻¹
Контроль	6,65 ± 0,56	191,4 ± 13,5	1,77 ± 0,28
1,05 мл/кг	6,51 ± 0,32	142,5 ± 21,7	1,33 ± 0,32
2,1 мл/кг	6,90 ± 0,40	144,0 ± 14,4	0,67 ± 0,10*
2,9 мл/кг	6,55 ± 0,37	127,3 ± 23,6	1,19 ± 0,06

* — достовірні зміни у відношенні до контролю

Таблиця 5

Вміст сечовини та хлоридів у сироватці крові

	Сечовина, ммоль · л ⁻¹	Хлориди, ммоль · л ⁻¹
Контроль	5,96 ± 0,58	103,30 ± 2,08
1,05 мл/кг	5,46 ± 0,33	103,50 ± 1,72
2,1 мл/кг	5,80 ± 0,25	107,50 ± 3,61
2,9 мл/кг	5,27 ± 0,17	106,40 ± 1,53

2,1 мл/кг і збільшення концентрації калію і натрію при всіх досліджених дозах. У більш пізній термін не було виявлено значних змін показників функціонального стану нирок.

ВИСНОВКИ

1. Досліджуваний зразок екстракту з листя груші виявляє широкий спектр антимікробної активності.

2. Найбільш високий рівень антимікробної дії виявлений у відношенні грам позитивних мікроорганізмів — культур золотистого стафілокока і сінної палички.

3. Серед культур грамнегативних бактерій середня чутливість до екстракту з листя груші виявлена у відношенні культури синьогнійної палички.

4. Виявлена слабка протигрибкова активність екстракту з листя груші, яка поступається за рівнем вираженості антибактеріальній активності.

5. Екстракт з листя груші чинить нетривалу діуретичну дію, яка супроводжується збільшенням концентрації в сечі креатиніну, калію і натрію.

Наявність антимікробної і діуретичної дії ЕЛГ свідчить про доцільність його подальшого дослідження на моделях запальних захворювань сечовидільної системи. На користь цього також свідчать літературні дані про підвищення рівня арбутину в сироватці крові і сечі після вживання рослинної їжі, багатой на цей фенологікозид, а також його здатність активувати макрофаги [8, 13].

ЛІТЕРАТУРА

1. Гродзинський А.М. Лікарські рослини. — К.: Українська енциклопедія, 1992. — 544 с.
2. Могильницький А.В. Лекарственные растения и их применение. — Владивосток: МП "Экслибрис", 1992. — 233 с.
3. Навашин С.М., Фомина И.П. Рациональная антибиотикотерапия. — М.: Медицина, 1982. — 495 с.

4. Носаль М.А., Носаль М.М. *Лекарственные растения в народной медицине.* — М.: Внешиберика, 1991. — 255 с.
5. Полов Л.И. *Энциклопедия лекарственных растений.* — М.: Мир, 1998. — 467 с.
6. Deisinger P.J., Hill T.S., English J.C. // *J. Toxicol. Environ. Health.* — 1996. — Vol. 47, №1. — P. 31-46.
7. Hisatomi E., Matsui M., Kubota K., Kobayashi A. // *J. Agric. Food Chem.* — 2000. — Vol. 10, №10. — P. 4924-4928.
8. Ling J.M., Wang Z.T., Cai J.N. // *Gen. Pharmacol.* — 1996. — №7. — P. 1237-1240.
9. Matsuda H., Tanaka T., Kubo M. // *Yakugaku Zasshi.* — 1991. — Vol. 11, №4-5. — P. 253-258.
10. Moreira R.R., Carlos I.Z., Vilega W. // *Biol. Pharm. Bull.* — 2001. — №2. — P. 201-204.
11. Nakamura Y., Toricai K., Onto Y. // *Carcinogenesis.* — 2000. — Vol. 21, №10. — P. 1899-1907.
12. Nincha D.K., Oliver A.E., Growe J.H. // *Biophys. J.* — 1999. — №4. — P. 2024-2034.
13. Oliver A.E., Hinch D.K., Crowe J.H. // *Comp. Biochem. Physiol. Mol. Integr. Physiol.* — 2002. — №3. — P. 515-525.
14. Oliver A.E., Hinch D.K., Tsvetkova N.M. et al. // *Chem. Phys. Lipids.* — 2001. — №1. — P. 37-57.
15. Park S.F. // *Lett. Appl. Microbiol.* — 1994. — №4. — P. 258-266.
16. Sakuma K., Ogawa M. // *Arch. Pharm. Res.* — 1999. — №4. — P. 335-339.
17. Wardle E.N. // *Renal Fail.* — 1999. — Vol. 21, №6. — P. 581-591.

УДК 615.322:615.28

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОГО И МОЧЕГОННОГО
ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ ГРУШИ ОБЫЧНОЙ
Л.В.Яковлева, В.С.Кисличенко, А.А.Самохин, Е.Н.Новосел,
Л.Ф.Силаева

Исследовано антимикробное и мочегонное действие экстракта из листьев груши обычной. Антимикробную активность экстракта изучали общепринятым в микробиологической практике методом диффузии в агар, мочегонное действие изучали на самцах крыс. Обнаружено, что исследуемый образец экстракта из листьев груши обладает широким спектром антимикробной активности и имеет непродолжительное диуретическое действие, что свидетельствует о целесообразности его дальнейшего исследования на моделях воспалительных заболеваний мочевыделительной системы и его использования как растительного сырья для получения экстракта и разработки нового препарата.

UDC 615.322:615.28

ANTIMICROBIAL AND DIURETIC ACTIVITY RESEARCH
OF PEAR COMMON LEAVES EXTRACT
L.V.Yakovleva, V.S.Kislichenko, A.A.Samokhin, Ye.N.Novosel,
L.F.Silayeva

We have researched the antimicrobial and diuretical activity of pear common leaves extract. Extract antimicrobial activity has been studied by the standard in microbiological practice method-diffusion in agar, diuretic activity has been studied on male-rats. It has been established that the researched extract sample of pear leaves has a wide spectrum of antimicrobial activity and has short diuretic activity, that testifies about expediency of its further research on models of excretory system diseases and its usage, as vegetative raw materials for extract reception and new preparation development.