ВПЛИВ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ ARTEMISIA L. НА ПРОТИЛІЗОЦИМНІ ВЛАСТИВОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ

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

Національний фармацевтичний університет
ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України"*

Ключові слова: полин гіркий; полин звичайний; полин австрійський; ліпофільні фракції; мікроорганізми; лізоцим

Досліджено ступінь впливу хлороформних та етилацетатно-спиртових фракцій з трави полину гіркого (Artemisia absinthium L.), полину звичайного (A. vulgaris L.) та полину австрійського (A. austriaca Jacq.) на антилізоцимні властивості патогенних мікроорганізмів — Pseudomonas aeruginosa, Neisseria meningitidis, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes та Candida albicans. Встановлено, що ліпофільні фракції мають виражену інгібуючу дію щодо протилізоцимної активності використаних тест-штамів мікроорганізмів. Показано, що найбільш виражена інактивуюча дія притаманна хлороформній та етилацетатно-спиртовій витяжці полину австрійського та етилацетатно-спиртовій витяжці полину гіркого. Результати досліджень розкривають один з механізмів антимікробної дії сполук рослинного походження та доводять перспективність використання отриманих субстанцій для створення лікарських форм направленої фармакологічної активності.

Представники роду Полин (Artemisia L.) родини айстрові (Asteraceae) належать до найбільш розповсюджених у світовій флорі. В Україні поширені полин гіркий (Artemisia absinthium L.), полин звичайний (A. vulgaris L.) та полин австрійський (A. austriaca Jacq.), які знаходять застосування в офіційній і народній медицині, що зумовлено їх комплексами біологічно активних речовин (БАР) [3, 4].

Офіцинальним видом є полин гіркий, з трави якого виробляють препарати та рослинні збори для збудження апетиту та покращення травлення. Трава полину звичайного офіцинальна в багатьох країнах Європи та Америки. Британська рослинна фармакопея рекомендує її при аменореї та дисменореї [14]. В народній медицині траву і коріння полину звичайного вживають при онкологічних захворюваннях шлунка, прямої кишки і матки, як протизапальний засіб — при гастриті, виразці шлунка, туберкульозі, геморої, гіпертонічній хворобі, альгоменореї, аменореї, епілепсії, неврастенії, менінгіті [7, 8]. Полин австрійський використовують як засіб, що стимулює секрецію шлункового соку і жовчі, підвищує діурез і виділення поту, виявляє жарознижуючу, кровоспинну, протисудомну, слабку снодійну, протиблювотну та глистогінну дію [12]. В народній медицині різні види полину використовуються як антимікробні та антифунгальні засоби [6, 9, 11, 13].

Спроможність бактерій ініціювати розвиток інфекції певною мірою пов'язана з біологічною дією БАР, що впливають на інактивацію чинників неспецифічного та специфічного протиінфекційного захисту макроорганізму: здатність бактерій специфічно взаємодіяти з комплементом, інгібувати інтерферон, зв'язувати лізоцим завдяки антилізоцимній активності, руйнувати імуноглобуліни у зв'язку з наявністю антиімуноглобулінової активності, пригнічувати фагоцитоз. Протилізоцимна активність є однією з головних ознак хвороботворності патогену, оскільки є початковим етапом взаємодії мікро- та макроорганізмів. Виходячи з існуючого поняття про основний механізм дії лізоциму (розщеплення 1,4-глікозидних зв'язків у структурі молекули пептидоглікану клітинної стінки) та загальновідомих даних щодо антимікробної активності БАР ліпофільних та ліпофільно-фенольних фракцій рослинного походження, таких як хлорофіли, терпеноїди, фенольні та ароматичні сполуки, що впливають на окремі компоненти клітинної стінки, логічно висловити припущення щодо можливості ліпофільних витяжок у низьких дозах

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

Н.В.Кашпур — молодший науковий співробітник лабораторії імунореабілітології ДУ "Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України" (м. Харків)

Таблиця 1

Ступінь впливу ліпофільних фракцій полину гіркого в суббактеріостатичних дозах на протилізоцимну активність мікроорганізмів

Мікроорганізми	Рівень інактивованого лізоциму, мкг /мл (M±m)		
	контроль	з хлороформною фракцією	з етилацетатно-спиртовою фракцією
P. aeruginosa	6,5±0,15	3,0±0,05*	1,8±0,05**
N. meningitidis	4,3±0,09	2.1±0,04*	1,9±0,03*
Kl. pneumoniae	5,6±0,11	2,4±0,07*	2,1±0,07*
S. aureus	5,1±0,14	1,9±0,04**	1,9±0,05*
S. pyogenes	6,1±0,17	3,1±0,09*	2,4±0,03**
C. albicans	4,7±0,08	1,6±0,03**	1,3±0,06**

Примітка. * — P<0,05; ** — P<0,01.

Таблиця 2

Ступінь впливу ліпофільних фракцій полину звичайного в суббактеріостатичних дозах на протилізоцимну активність мікроорганізмів

Мікроорганізми	Рівень лізоциму, мкг/мл (M±m)		
	контроль	з хлороформною фракцією	з етилацетатно-спиртовою фракцією
P. aeruginosa	6,5±0,15	4,1±0,07	3,8±0,04
N. meningitidis	4,3±0,09	3,0±0,05	2,4±0,06*
Kl. pneumoniae	5,6±0,11	3,1±0,11	2,7±0,05
S. aureus	5,1±0,14	2,9±0,06	2,4±0,09*
S. pyogenes	6,1±0,17	4,6±0,09	2,8±0,06*
C. albicans	4,7±0,08	3,5±0,07	2,0±0,03*

Примітка. * — P<0,05

Таблиця 3

Ступінь впливу ліпофільних фракцій полину австрійського в суббактеріостатичних дозах на протилізоцимну активність мікроорганізмів

Мікроорганізми	Рівень лізоциму, мкг/мл (M±m)		
	контроль	з хлороформною фракцією	з етилацетатно-спиртовою фракцією
P. aeruginosa	6,5±0,15	2,1±0,06**	1,2±0,04**
N. meningitidis	4,3±0,09	1,6±0,06**	1,0±0,06**
Kl. pneumoniae	5,6±0,11	1,9±0,03**	1,8±0,03**
S. aureus	5,1±0,14	2,2±0,07*	1,6±0,05**
S. pyogenes	6,1±0,17	1,8±0,11**	2,3±0,07**
C. albicans	4,7±0,08	1,6±0,08**	1,5±0,04**

Примітка. * — P<0,05; ** — P<0,01.

нейтралізовувати протилізоцимну активність мікроорганізмів [1, 5].

Метою нашої роботи стало встановлення впливу ліпофільних (хлороформних) та ліпофільно-фенольних (етилацетатно-спиртових) фракцій полину гіркого, полину звичайного та полину австрійського на протилізоцимну активність клінічно значущих штамів мікроорганізмів.

Матеріали та методи

Ліпофільні та ліпофільно-фенольні фракції отримували шляхом послідовного вичерпного екстрагування органічними розчинниками повітряно-сухої трави трьох видів полину: спочатку хлороформом, а потім етилацетатно-спиртовою сумішшю (8:2). Об'єкти заготовляли у фазі цвітіння влітку 2010 р.

Вплив хлороформної та етилацетатної фракцій на протилізоцимну активність тест-штамів Pseudomonas aeruginosa, Neisseria meningitidis, Klebsiella pneumonia, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes та Candida albicans визначали за методиками О.В.Бухаріна та співавт. у модифікації В.І.Білозерського [1]. Штами мікроорганізмів засівали на поживне середовище з лізоцимом, ефект інактивації лізоциму визначали за зростанням на середовищі індикаторної культури Micrococcus luteus. Дані в контрольних дослідах наведені як середньоарифметичні для різних штамів мікроорганізмів. Кількісну оцінку антилізоцимної активності проводили за максимальною концентрацією лізоциму, яка інактивувалася даним штамом. Отримані результати досліджень статистично обробляли за С.Гланц [2].

Результати та їх обговорення

Ступінь впливу ліпофільних фракцій трави різних видів полину на протилізоцимну активність мікроорганізмів досліджували в суббактеріостатичних дозах (25% від мінімальної затримуючої ріст мікробів концентрації). В прямому досліді in vitro визначено ступінь нейтралізації антилізоцимної дії деяких збудників інфекційних хвороб (табл. 1-3). Ступінь змен-

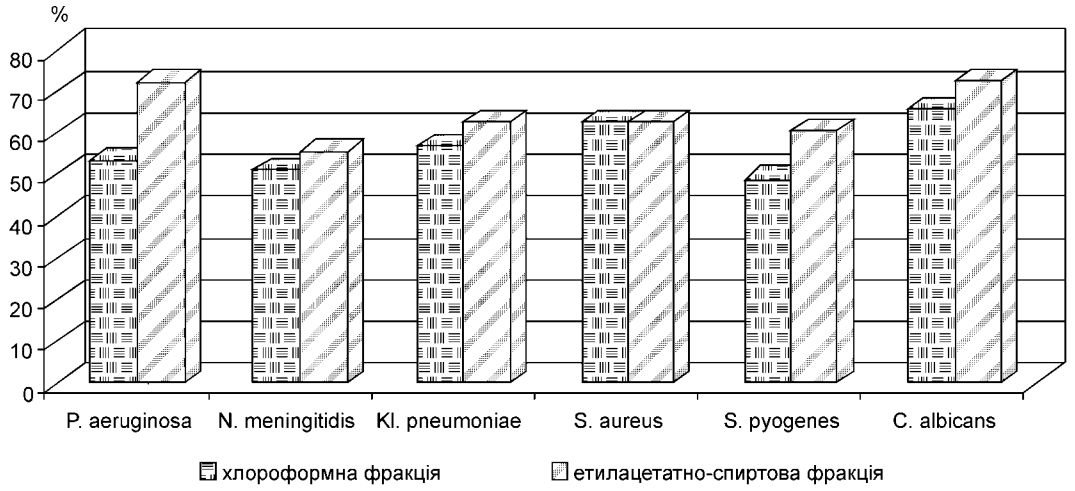

Рис. 1. Ступінь зменшення рівня інактивованого лізоциму під впливом ліпофільних фракцій полину гіркого (%)

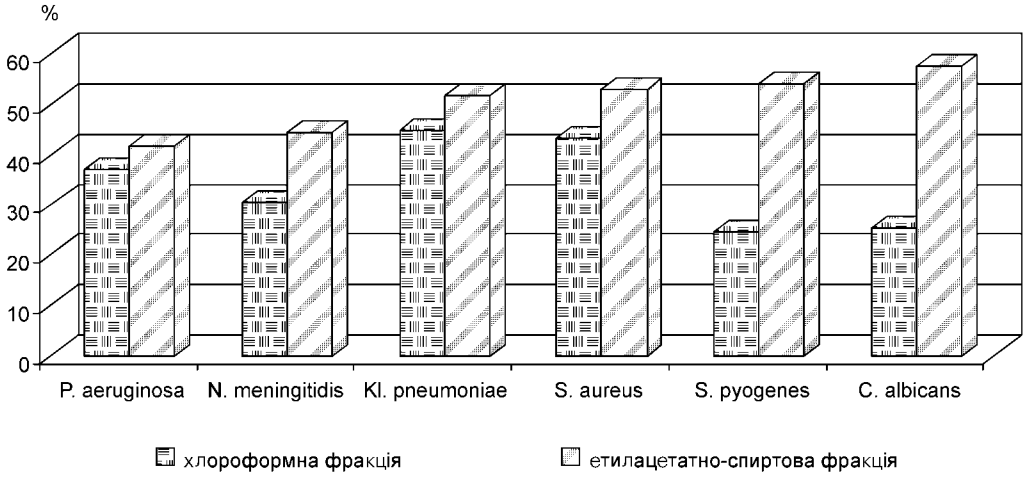

Рис. 2. Ступінь зменшення рівня інактивованого лізоциму під впливом ліпофільних фракцій полину звичайного (%)

шення (у %) рівня інактивованого лізоциму під впливом ліпофільних фракцій різних видів полину представлено на рис. 1-3.

Аналіз отриманих даних свідчить, що досліджені ліпофільні та ліпофільно-фенольні фракції чинять виражену інгібуючу дію відносно протилізоцимної активності використаних тест-штамів мікроорганізмів, що пояснюється компонентним складом БАР хлороформних та етилацетатно-спиртових фракцій. Раніше було встановлено, що загальними сполуками хлороформних фракцій полину є хлорофіли; монотерпеноїди — сабінен, мірцен, ліналоол, тер-

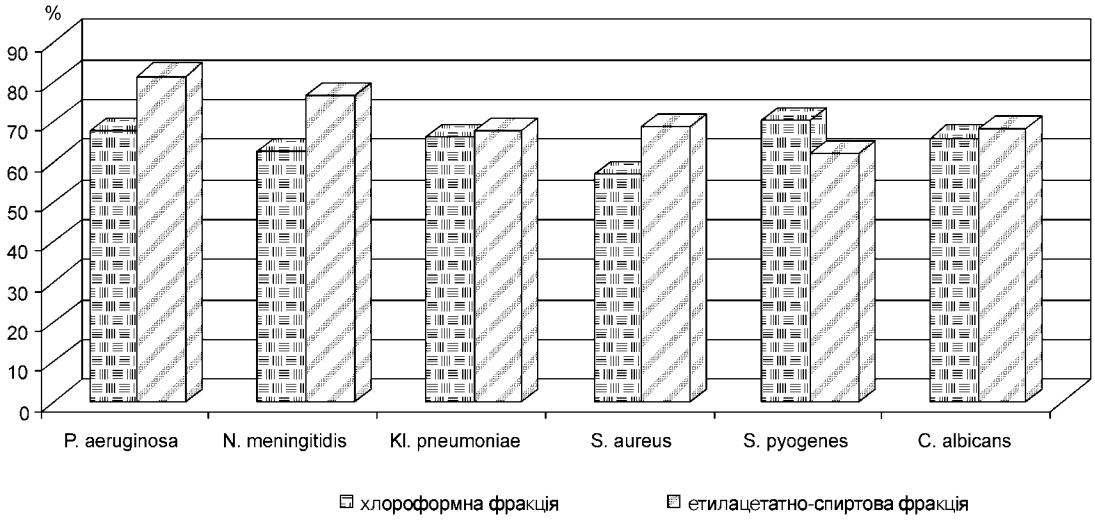

Рис. 3. Ступінь зменшення рівня інактивованого лізоциму під впливом ліпофільних фракцій полину австрійського (%)

пінеол і сесквітерпеноїди — кадинен, селінен, хамазулен; ароматичні сполуки — евгенол, анетол; кумарин та його метоксипохідні [3, 4]. Для хлороформної фракції полину звичайного характерний значний вміст сесквітерпенового лактону артемізину.

В етилацетатно-спиртових фракціях різних видів полину основними є монозиди кумаринів та флавоноїдів, а також ароматичні терпеноїди — евгенол, анетол.

Хлороформна та етилацетатно-спиртова витяжки з полину австрійського відрізняються значним вмістом ізомерів дитерпену — неофітадієну, які відомі своєю антибактеріальною та антиоксидантною активністю [10]. В значно менших кількостях неофітадієн виявлено у полину звичайному.

Спостерігається така закономірність: активність етилацетатно-спиртових фракцій у більшості випадків вища за активність хлороформних фракцій відповідних видів полину, що пояснюється більшим вмістом у них фенольних сполук та ароматичних терпеноїдів. Серед етилацетатно-спиртових витяжок найактивнішою до більшості штамів виявилась витяжка з полину австрійського, який відрізняється великим вмістом метоксифенолів та ізомерів неофітадієну. Більш активну антифунгальну дію по відношенню до C. albicans виявила витяжка з полину гіркого, для якого характерний значний вміст вінілоцтової (кротонової) кислоти та ароматичних терпеноїдів.

Така ж тенденція простежується і серед хлороформних фракцій: витяжка з полину гіркого більш активна щодо S. aureus та C. albicans, витяжка з полину австрійського — до решти досліджених мікроорганізмів.

Ліпофільні та ліпофільно-фенольні фракції полину звичайного виявилися найменш активними.

ВИСНОВКИ

1. Визначено ступінь впливу хлороформних та етилацетатно-спиртових фракцій трави полину гіркого (Artemisia absinthium L.), полину звичайного (A. vulgaris L.) та полину австрійського (A. austriaca Jacq.) на антилізоцимні властивості патогенних мікроорганізмів.

2. Встановлено, що досліджувані фракції проявляють виражену інгібуючу протилізоцимну активність штамів P. aeruginosa, N. meningitis, Kl. pneumoniae, S. aureus, S. pyogenes, C. albicans.

3. Найбільш виражену інгібуючу протилізоцимну дію по відношенню до усіх досліджуваних штамів проявляють хлороформна та етилацетатно-спиртова витяжка полину австрійського та етилацетатно-спиртова витяжка полину гіркого.

4. Активність етилацетатно-спиртових фракцій полину вища за активність хлороформних фракцій відповідних видів полину, що пояснюється більшим вмістом у них фенольних сполук, ароматичних терпеноїдів та ізомерів дитерпену — неофітадієну.

5. Наведені дані частково пояснюють один з аспектів механізму антимікробної дії субстанцій досліджених рослин та окреслюють перспективу їхнього застосування в низьких дозах з метою зниження селективних переваг клінічно значущих мікроорганізмів.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Белозерский В.И. //Микробиол. журн. — 1999. — Т. 6, №3. — С. 57-61.*
2. *Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. — М.: Практика, 2001. — 459 с.*
3. *Ісакова Т.І., Ковальова А.М., Очкур О.В. та ін. //Укр. біофармац. журн. — 2010. — №1 (16). — С. 62-68.*
4. *Ковальова А.М., Очкур О.В., Вальдовський А.О. //Зб. робіт ИМАПО. — 2009. — Вип. 18, Кн. 3. — С. 444-448.*
5. *Руденко Л.М. //Анн. Мечниковського інституту. — 2008. — №4. — С. 61-66.*
6. *Ajaji I.A., Jonathan S.G., Adewuyi A., Oderinde R.A. //World Applied Sci. J. — 2008. — Vol. 3 (1). — P. 79-81.*
7. *Caner A., Doskaya M., Degirmenci A. et al. //Exp. Parasitol. — 2008. — №119 (1). — P. 173-179.*
8. *Gilani A.H., Yaeesh S., Jamal Q. et al. //Phototherapy Res. — 2005. — Vol. 19 (2). — P. 170-172.*
9. *Juteau F., Jerkovic I., Masotti V. et al. //Planta Med. — 2003. — Vol. 69. — P. 158-161.*
10. *Kalamanda O., Kukric Z., Nikolic M. //Acta agriculturae Serbica. — 2001. — Vol. 6, br. 12. — Str. 65-72.*
11. *Kordali S., Kotan R., Mavi A. et al. //J. Agric. Food Chem. — 2005. — Vol. 53. — P. 9452-9458.*
12. *Mercan U., Oner A.C., Onturk H. et al. //Pharmacol. online. — 2008. — №1. — P. 131-138.*
13. *Shafi N., Khan G.A., Ghauri E.G. //Pak. J. Sci. Ind. Res. — 2004. — Vol. 47 (2). — P. 130-134.*
14. *Wormwood — Absinthii herba //European Pharmacopoeia. 6th ed. — Council of Europe. — 01/2008. — P. 1380.*

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

Надійшла до редакції 13.04.2011 р.