

ПРОТИГРИБКОВА АКТИВНІСТЬ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ РОСЛИН РОДУ *GALIUM*. ПОВІДОМЛЕННЯ 3

Н.В.Кашпур, О.В.Горяча*, Т.В.Льїна*, 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; ліпофільні фракції; гриби; протигрибкова активність; фенольні сполуки; терпеноїди

Досліджено протигрибкову активність хлороформних та 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 7 тест-штамів грибів: *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9, *Zygosaccharo spp.* 40 b/2, *Cryptococcus neoformans* 32609, *Rhodoflora glutinis* F-129, *Picha anomala* 40, *Kluveromyces lactis* F 116, *Aspergillus niger* 704. Встановлено, що по відношенню до *Zygosaccharo spp.* та *A. niger* протигрибкову дію проявили всі досліджувані фракції. По відношенню до *G. candidum* активними були фракції підмаренника справжнього та підмаренника хрещатого. По відношенню до *C. neoformans* жодна з досліджуваних фракцій не була активною. По відношенню до *Rh. glutinis*, *K. lactis* та *P. anomala* незначну активність проявили етилацетатно-спиртові фракції підмаренника верболистого, підмаренника справжнього та хлороформна фракція підмаренника хрещатого відповідно. Виявлено залежність між вмістом суми основних груп БАР у досліджуваних фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності.

Останнім часом зростає актуальність проблеми мікозів у пацієнтів різного профілю у зв'язку зі збільшенням інтенсивності впливу на організм людини зовнішніх факторів, що викликають порушення в системі антимікотичного захисту [9-12].

Продовжуючи дослідження протигрибкової активності ліпофільних фракцій підмаренників [6, 7], приводимо результати дослідження протигрибкової активності ліпофільних комплексів біологічно активних речовин (БАР), отриманих з видів роду підмаренник (*Galium* L.) родини маренові (*Rubiaceae*) відносно тест-штамів грибів, які не відносяться до роду *Candida*.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були хлороформні та етилацетатно-спиртові (8:2) фракції, отрима-

ні методом послідовної циркуляційної екстракції сировини в апараті Сокслета у порядку зростання полярності розчинників, з повітряно-сухих надземних частин 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 отриманих фракцій вивчали на 7 тест-штамах: *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9, *Zygosaccharo spp.* 40 b/2, *Cryptococcus neoformans* 32609, *Rhodoflora glutinis* F-129, *Picha anomala* 40, *Kluveromyces lactis* F 116, *Aspergillus niger* 704.

Дослідження протигрибкової активності проводилось методом дифузії в агар (метод «колодязів») [8]. Ступінь чутливості грибів стосовно досліджува-

них фракцій оцінювали за розміром зон затримки росту. Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і визначалося 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 антимікотик групи триазолів – флуконазол (200 мг/мл), паралельно проводили дослідження протигрибкової дії хлорофіліпту (1% спиртовий розчин).

Результати досліджень статистично оброблялись за С.Гланц [1].

Результати та їх обговорення

Раніше нами було встановлено, що до складу хлороформних фракцій підмаренників входять хлорофіли, каротиноїди, жирні кислоти та терпеноїди

Н.В.Кашпур – молодший науковий співробітник лабораторії імунореабітології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України» (м. Харків)

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

Таблиця 1

Антимікотична активність ліпофільних екстрактів видів роду *Galium* L., n = 6

№ п/п	Штам грибів	Затримка росту мікроорганізмів, мм (M±m)							
		хлороформні фракції			етилацетатно-спиртові фракції			флуконазол	хлорофіліпт
		Gv	Gs	Gc	Gv	Gs	Gc		
1	<i>Geotriichum candidum</i> (<i>Galactomyces geotrichum</i>) Скляр 9	21,2±0,6	*	19,2±0,6	21,2±0,2	*	17,1±0,5	21,1±0,6	*
2	<i>Zygosaccharo spp.</i> 40 b/2	19,1±0,5	17,1±0,5	16,1±0,5	19,0±0,1	18,1±0,4	20,1±0,5	*	16,1±0,5
3	<i>Cryptococcus neoformans</i> 32609	*	*	*	*	*	*	19,1±0,5	*
4	<i>Rhodoflora glutinis</i> F-129	*	*	*	*	10,0±0,1	*	*	*
5	<i>Picha anomala</i> 40	*	*	12,0±0,2	*	*	*	17,1±0,5	18,1±0,4
6	<i>Kluveromyces lactis</i> F 116	*	*	*	10,0±0,4	*	*	17,2±0,4	*
7	<i>Aspergillus niger</i> 704	28,3±0,1	20,0±0,4	16,0±0,1	21,3±0,1	17,0±0,3	17,0±0,1	*	*

Примітки:

1) * – затримка росту відсутня;

2) Gv – *Galium verum*, Gs – *Galium salicifolium*, Gc – *Galium cruciata*;

3) n = 6 – кількість повторень експерименту для кожного мікроорганізму;

4) M±m – середнє значення ± похибка середнього значення.

[2-4]. При вивченні компонентного складу етилацетатно-спиртових фракцій було встановлено, що вони містять фенолкарбонові кислоти та флавоноїди [5]. Спільними для всіх фракцій є хлорогенова кислота та рутин. Сполуки терпенової природи представлені ациклічними, моноциклічними та біциклічними монотерпеноїдами [3].

Отримані дані (табл. 1) свідчать про те, що препарат порівняння флуконазол виявився неактивним по відношенню до *Zygosaccharo spp.*, *Rhodoflora glutinis* та *Aspergillus niger*. Хлорофіліпт проявляє активність лише по відношенню до 2 штамів – *Zygosaccharo spp.* та *Picha anomala*.

Отримані нами ліпофільні фракції з підмаренників по-різному впливають на ріст використаних тест-культур грибів.

По відношенню до *Geotriichum candidum* на рівні флуконазолу діють обидві фракції під-

маренника справжнього і де-що менш активні фракції підмаренника хрещатого. На *Zygosaccharo spp.* усі досліджувані фракції діють на рівні хлорофіліпту і вище. По відношенню до *Cryptococcus neoformans* жодна з досліджуваних фракцій та хлорофіліпт не проявили інгібуючого впливу на зростання. До *Rhodoflora glutinis* слабку активність проявила етилацетатно-спиртова фракція *G. salicifolium*. До *Picha anomala* активною була хлороформна фракція *G. cruciata*. До *Kluveromyces lactis* активною виявилася лише етилацетатно-спиртова фракція *G. verum*. До *Aspergillus niger*, на відміну від препаратів порівняння, активність проявили всі досліджувані фракції, найактивнішою виявилася хлороформна фракція *G. verum*.

При порівняльному аналізі хімічного складу ліпофільних 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, 3).

Спостерігається пряма залежність (табл. 2) між вмістом суми терпенів і терпеноїдів, суми спиртів у хлороформних фракціях досліджуваних видів та ступенем їх активності по відношенню до *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9; терпенових спиртів, суми терпенів і терпеноїдів, жирних кислот – до *Picha anomala* 40; аліфатичних спиртів – до *Aspergillus niger* 704 та *Zygosaccharo spp.* 40 b/2.

При аналізі активності етилацетатно-спиртових фракцій (табл. 3) виявлено, що існує пряма залежність між вмістом терпенів, суми терпенів і терпеноїдів, суми спиртів, аліфатичних спиртів, неофітадієнів, суми сполук з подвійним зв'яз-

Таблиця 2

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

Сума БАР	<i>Picha anomala</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Geotriichum candidum</i>	<i>Zygosaccharo spp.</i>
Терпенові спирти	0,97	*		*
Терпени і терпеноїди	0,85	*	0,84	*
Спирти	*	*	0,95	*
Аліфатичні спирти	*	0,89	*	0,89
Жирні кислоти	0,91	*	*	*

Примітка. * – коефіцієнт кореляції нижче 0,80.

Таблиця 3

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

Сума БАР	<i>Rhodoflora glutinis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Geotriichum candidum</i>	<i>Zygosaccharo spp.</i>
Терпени	-0,98	1,00	*	*
Терпенові спирти	-0,98	*	1,00	*
Терпени і терпеноїди	-0,98	0,97	*	*
Спирти	-0,98	0,93	0,88	*
Аліфатичні спирти	-0,98	0,99		*
Стероїдні спирти	-0,98	x	0,97	0,87
Жирні кислоти	-0,98	x	0,96	*
Неофітадієни	-0,98	0,95	*	*
Сполуки з подвійними зв'язками	-0,98	0,97	*	*
Хлорогенова кислота	-0,90	*	0,97	*
Гідроксикоричні кислоти	-0,91	*	*	*
Рутин	*	*	*	0,92
Рутин і хлорогенова кислота	*	*	*	0,90
Флавоноїди	*	*	*	0,86
Всі фенольні сполуки	*	*	*	0,95

Примітка. * – коефіцієнт кореляції нижче 0,80.

ком та активністю по відношенню до *Aspergillus niger* 704; терпенових спиртів, суми спиртів, стероїдних спиртів, жирних кислот, хлорогенової кислоти – до *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9; стероїдних спиртів, суми фенольних сполук, у тому числі хлорогенової кислоти і рутину – до *Zygosaccharo spp.* 40 b/2.

Зворотну залежність встановлено між вмістом у етилацетатно-спиртових фракціях суми терпеноїдних сполук, спиртів (у тому числі і аліфатичних), жирних кислот, суми гідроксикоричних кислот (у тому числі хлорогенової) та їх активні-

стю по відношенню до *Rhodoflora glutinis* F-129.

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 *Geotriichum candidum*, *Zygosaccharo spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhodoflora glutinis*, *Picha anomala*, *Kluyveromyces lactis*, *Aspergillus niger*.

2. Встановлено, що по відношенню до *Zygosaccharo spp.* та *Aspergillus niger* протигриб-

кову дію проявили всі досліджувані фракції. По відношенню до *Geotriichum candidum* активними були фракції підмаренника справжнього та підмаренника хрещатого. По відношенню до *Rhodoflora glutinis*, *Picha anomala* та *Kluyveromyces lactis* незначну активність проявили етилацетатно-спиртова фракція підмаренника верболистого, хлороформна фракція підмаренника хрещатого та етилацетатно-спиртова фракція підмаренника справжнього відповідно. По відношенню до *Cryptococcus neoformans* жодна з досліджуваних фракцій не була активною.

3. Виявлено залежність між вмістом суми основних груп БАР у досліджуваних фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності по від-

ношенню до ряду використаних тест-культур грибів.

4. Отримані результати свідчать про перспективність подальшого вивчення ліпофіль-

них фракцій трави підмаренників справжнього, хрещатого та верболистого з метою створення на їх основі протигрибкових засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гланц С. *Медиико-биологическая статистика / Пер. с англ.* – М.: Практика, 2001. – 459 с.
2. Горяча О.В., Кашпур Н.В. // *Актуальні питання сучасної медицини: Тези Міжнар. наук. конф. студ. і молодих учених (Харків, 24-26 березня 2011 р.)*. – Х., 2011. – С. 55-56.
3. Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В. // *Укр. біофармац. журн.* – 2009. – №5 (5). – С. 31-36.
4. Ільїна Т.В., Гриценко О.М., Горяча О.В., Ковальова А.М. // *Зб. праць КМАПО.* – 2008. – Вип. 11, кн. 1. – С. 718-724.
5. Ильина Т.В., Ковалева А.М., Горячая О.В. // *VII Междунар. симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты: Матер. доклад., 19-23 октября 2009 г.* – М.: Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, 2009. – С. 105-107.
6. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // *Клінічна фармація.* – 2011. – Т. 15, №4. – С. 50-53.
7. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // *Клінічна фармація.* – 2012. – Т. 16, №1. – С. 48-51.
8. Решедько Г.К., Стецюк О.У. // *Клин. микробиол. и антимикробная химиотерапия.* – 2001. – Т. 3, №4. – С. 348-355.
9. Goldman D.L., Lee S.C., Mednick A.J. et al. // *Infect. Immunol.* – 2000. – Vol. 68. – P. 832-838.
10. Lin X., Heitman J. // *Ann. Rev. Microbiol.* – 2006. – Vol. 60. – P. 69-105.
11. Patterson T.F. // *Med. Mycol.* – 2009. – №51, Suppl. 1. – P. 255-260.
12. Vonberg R.P., Gastmeier P. // *J. Hosp. Infect.* – 2006. – Vol. 63, №3. – P. 246-254.

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

Надійшла до редакції 18.04.2012 р.