

Вивчення антимікробної активності етанольного екстракту трави *Dracocephalum moldavica* L. (Lamiaceae)

Етанольний екстракт трави *Dracocephalum moldavica* L., вирощеної в умовах Житомирського Полісся, характеризується антимікробною активністю стосовно тест-культур мікроорганізмів – гриба *Candida albicans*, грам-позитивних (*Staphylococcus aureus*) та грам-негативних (*Escherichia coli*) бактерій. На *Pseudomonas aeruginosa* екстраговані речовини не впливали.

Ключові слова: *Dracocephalum moldavica*, етанольний екстракт, мінімальна бактеріостатична концентрація, мінімальної бактерицидна концентрація.

Постановка наукової проблеми та її значення. Останнім часом зріс науковий інтерес до антимікробних засобів рослинного походження. До природних біологічно активних речовин, що мають протимікробну дію, належать рослинні антибіотики, фітонциди, ефірні олії, бальзами, смоли, дубильні речовини, органічні кислоти, алкалоїди, глікозиди. Всі вони утворюються під час життєдіяльності різних груп рослин для самозахисту живих тканин від розмноження в них мікроорганізмів. Потрапляючи в організм людини, вони активно діють проти бактерій, небезпечних для здоров'я (стафілококів, стрептококів, мікобактерій туберкульозу). Їх застосовують для лікування та профілактики багатьох недуг: грипу, гострих респіраторних вірусних інфекцій, ангіни, деяких гінекологічних захворювань, хвороб слизових оболонок рота, гнійних утворень, а також захворювань травного каналу. Вважають, що деякі БАР стимулюють власні цілющі сили організму – фагоцитоз, запалення, антигенну реактивність, антибіотичні особливості тканин, регенеративні процеси, а це найкращий спосіб боротьби з хворобою. Протимікробна дія рослинних препаратів може бути як бактеріостатичною, так і бактерицидною [1; 12; 14].

На думку В. П. Тульчинської та Н. Г. Юргелайтис (1981), бактерицидні властивості характерні і для деревних, і для трав'яних рослин, але більш яскраво вони виражені в ефіроолійних рослин, які продукують біологічно активні речовини (БАР) [3; 16].

Згідно з повідомленнями Б. П. Токіна (1980), Л. Д. Юрчак (2005), Н. Е. Елланської та Н. О. Гнатюк (2010) ефіроолійні рослини, які належать до родини Губоцвітих (шавлія лікарська, шавлія мускатна, монарда двійчаста, гісоп лікарський, змієголовник молдавський та ін.), гальмували ріст грибів *Penicillium expansum*, *Trichoderma viride*, *Fusarium oxysporum* [7; 11; 15; 18].

Досить цінною лікарською, пряно-ароматичною, ефіроолійною рослиною, яку почали культивувати в Україні, є інтродуцент змієголовник молдавський, який належить до родини Губоцвітих (Lamiaceae). Це однорічна трав'яна рослина, яка у природі трапляється в Середній Азії, Західному і Східному Сибіру, на Далекому Сході, у Монголії, Китаї та Північній Америці [7].

За повідомленням багатьох дослідників, сировина *D. moldavica* містить комплекс біологічно активних речовин досить широкого спектра фармакологічної активності [5; 6].

У траві змієголовника молдавського виявлено ліпіди, протеїни флавоноїдні сполуки, вітаміни, дубильні речовини, мікроелементи, ефірні олії. Ефірна олія змієголовника молдавського – світло-

жовта рідина з лимонним ароматом, що містить 25–70 % цитралю. Цитраль використовують як ароматизатор у харчовій промисловості, як антисептик і протизапальний засіб, як сировину для отримання вітаміну А. Входить до складу ліків для очей, знижує кров'яний тиск [9; 10; 13].

За результатами експериментів єгипетських дослідників (Н. Hanaa Abd El-Basy, Gamal S. El-Baroty, 2008) ефірна олія змієголовника молдавського виявилася патогенною проти грам-позитивних бактерій *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* та грам-негативних бактерій *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*. Відмічено також фунгіцидні властивості ефірної олії *D. moldavica* проти *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*, *Mucora heimalis*, *Fusarium oxysporum* [19; 20].

Протимікробні властивості ефіроолійних рослин свідчать про доцільність їх використання для лікування багатьох хвороб, тому метою наших досліджень була оцінка біологічної активності екстракту змієголовника молдавського проти деяких патогенів бактеріального та грибового походження.

Ми досліджували біологічну активність 40 % спиртового екстракту змієголовника молдавського щодо золотистого стафілокока (*Staphylococcus aureus*), кишкової палички (*Escherichia coli*), синьогнійної палички (*Pseudomonas aeruginosa*) та кандиди біліючої (*Candida albicans*), які є патогенними стосовно інших організмів.

Виклад основного матеріалу та обґрунтування отриманих результатів дослідження. Вихідною сировиною для досліджень було обрано траву змієголовника молдавського, інтродукованого в умовах ботанічного саду Житомирського національного агроскологічного університету.

Для мікробіологічних досліджень використовували надземну частину рослин, зібрану у фазу цвітіння (серпень 2013 року). Сировину подрібнювали згідно з фармакопейними вимогами до розмірів 1–1,5 мм. Екстракт трави змієголовника молдавського був отриманий методом мацерації у 40 % етиловому спирті у співвідношенні 1 : 5, концентрація – 200 мг/мл. Сировину настоювали протягом семи діб при температурі 25 °С. Наявність антимікробної активності екстрагованих речовин у складі досліджуваних речовин визначали способом порівняння їх МІС (мінімальної пригнічувальної бактеріостатичної концентрації) та МВС/МФС (мінімальної бактерицидної/фунгіцидної концентрації) із такими в 40 % етиловому спирті [4].

Дослідження антимікробної активності екстракту змієголовника молдавського здійснювали на отриманих із Української колекції мікроорганізмів (УКМ, Інститут мікробіології і вірусології НАН України) тест-культурах мікроорганізмів: *Escherichia coli* УКМ В-906 (ATCC 25922); *Staphylococcus aureus* УКМ В-904 (ATCC 25923); *Pseudomonas aeruginosa* УКМ В-900 (ATCC 9027); *Candida albicans* УКМ У-1918 (ATCC 885-653). Названі вище мікроорганізми є тестовими штамми для визначення антимікробної дії лікарських засобів [17].

Визначали антимікробну активність екстракту *D. moldavica* стосовно тест-культур мікроорганізмів згідно з методикою визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів [2]. Антимікробну активність досліджуваних речовин вивчали методом послідовних серійних розведень, який передбачає визначення мінімальної бактеріостатичної (МІС) та мінімальної бактерицидної концентрацій (МВС). Для визначення МВС готували послідовні двократні розведення речовини в рідкому поживному середовищі, яку згодом визначали за найменшою концентрацією речовини, в присутності якої не спостерігали росту культури. Бактерицидну концентрацію досліджуваних речовин установлювали за результатом висіву пробірок із розведенням на щільні поживні середовища.

Отримання добових культур мікроорганізмів здійснювали на щільному поживному середовищі LB (Luria–Bertani medium, Merck, Germany) [8]: приготування робочих суспензій мікроорганізмів, визначення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІС) розведень зразків досліджуваних екстрактів проводили в рідкому середовищі LB (Luria–Bertani broth, Merck, Germany). Висів аліквот дослідних і контрольних суспензій для встановлення мінімальних бактерицидних/фунгіцидних концентрацій (МВС/МФС) препаратів проводили на щільне поживне середовище LB (Luria–Bertani medium, Merck, Germany) у чашки Петрі.

Добові культури мікроорганізмів отримували способом їх культивування на щільному поживному середовищі LB протягом 18–24 год при 37 °С. Із добових культур у 0,9 % розчині хлориду натрію готували вихідні бактеріальні суспензії за стандартом мутності 0,5 Од по МакФарланду (титр $1,5 \times 10^8$ КУО/мл). Останні розводили рідким середовищем LB у співвідношенні 1 : 100 (за об'ємом) і отримували робочі суспензії мікроорганізмів [2].

У результаті проведених досліджень було встановлено, що внесення до суспензій використаних тест-культур мікроорганізмів 40 % етилового спирту проявлялося бактеріостатичною активністю лише в розведенні 1 : 2 (табл. 1). При подальшому розведенні 40 % станол не пригнічував ріст мікроорганізмів у рідкій культурі.

Таблиця 1

Визначення мінімальної пригнічувальної концентрації (MIC) 40 % етилового спирту відносно тест-культур мікроорганізмів

| Тест-культури мікроорганізмів | Наявність росту тест-культури в дослідних варіантах при відповідному розведенні зразка | | | | | | Наявність росту тест-культури в контрольних варіантах | | | | |
|--|--|-------|-------|--------|--------|--------|---|----|----|----|----|
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 | +К | -К | Кс | Кз |
| <i>Escherichia coli</i> УКМ В-906 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> УКМ В-904 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> УКМ В-900 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| <i>Candida albicans</i> УКМ Y-1918 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |

Примітка: «+» – наявність росту культури; «-» – відсутність росту культури; «+К» – позитивний контроль росту тест-культури; «-К» – негативний контроль росту тест-культури; «Кс» – контроль чистоти середовища; «Кз» – контроль чистоти зразка (у розведенні 1 : 2).

Бактерицидна/фунгіцидна концентрація спирту у випадку *P. aeruginosa* і *C. albicans* відповідала бактериостатичній (табл. 2; рис. 2). Так, при нанесенні зразків рідкої культури без видимого росту на щільне середовище ріст також був відсутнім. Щодо *E. coli* і *S. aureus* жодне із використаних розведень спирту не характеризувалося бактерицидним ефектом. Показано, що висів суспензій навіть із пробірок із розведенням 40 % етилового спирту у співвідношенні 1 : 2 проявлявся на щільному середовищі ростом мікроорганізмів. Очевидно, що в цьому випадку щодо вказаних тест-культур мікроорганізмів 40 % етанол характеризується лише бактериостатичною дією (див. табл. 1).



Рис. 1. Визначення мінімальної пригнічувальної концентрації (MIC) зміголовника молдавського відносно тест-культур мікроорганізмів: А – *Escherichia coli* УКМ В-906; Б – *Staphylococcus aureus* УКМ В-904; В – *Pseudomonas aeruginosa* УКМ В-900; Г – *Candida albicans* УКМ Y-1918

Таблиця 2

Визначення мінімальної бактерицидної/фунгіцидної концентрації (МВС/МФС) 40 % етилового спирту відносно тест-культур мікроорганізмів

| Тест-культури мікроорганізмів | Наявність росту тест-культури на шільному середовищі при нанесенні відповідного розведення зразка | | | | | | |
|---|---|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Escherichia coli</i> УКМ В-906 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> УКМ В-904 | + | + | + | + | + | + | + |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> УКМ В-900 | - | + | + | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> УКМ Y-1918 | - | + | + | + | + | + | + |

Примітка: «+» – наявність росту культури; «-» – відсутність росту культури.

Відмічено, що екстракт трави *D. moldavica* характеризувався антимікробною активністю, оскільки екстраговані речовини двократно підвищували показники МІС і МВС етанольного екстракту щодо *S. aureus*. Відносно *C. albicans* двократно підвищився показник МІС. Дія цих речовин щодо *E. coli* характеризувалася посиленням бактерицидної дії удвічі. На *P. aeruginosa* екстраговані речовини не впливали (табл. 3–4; рис. 1–2).

Таблиця 3

Визначення мінімальної пригнічувальної концентрації (МІС) змієголовника молдавського відносно тест-культур мікроорганізмів

| Тест-культури мікроорганізмів | Наявність росту тест-культури в дослідних варіантах при відповідному розведенні зразка | | | | | | | Наявність росту тест-культури в контрольних варіантах | | | | |
|---|--|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---|----|----|----|---|
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 | +К | -К | Кс | Кз | |
| <i>Escherichia coli</i> УКМ В-906 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| <i>Staphylococcus aureus</i> УКМ В-904 | - | - | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> УКМ В-900 | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |
| <i>Candida albicans</i> УКМ Y-1918 | - | - | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - |

Примітка: «+» – наявність росту культури; «-» – відсутність росту культури; «+К» – позитивний контроль росту тест-культури; «-К» – негативний контроль росту тест-культури; «Кс» – контроль чистоти середовища; «Кз» – контроль чистоти зразка (у розведенні 1 : 2).

Таблиця 4

Визначення мінімальної бактерицидної/фунгіцидної концентрації (МВС/МФС) змієголовника молдавського відносно тест-культур мікроорганізмів

| Тест-культури мікроорганізмів | Наявність росту тест-культури на шільному середовищі при нанесенні відповідного розведення зразка | | | | | | |
|---|---|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Escherichia coli</i> УКМ В-906 | - | + | + | + | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> УКМ В-904 | - | + | + | + | + | + | + |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> УКМ В-900 | - | + | + | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> УКМ Y-1918 | - | + | + | + | + | + | + |

Примітка: «+» – наявність росту культури; «-» – відсутність росту культури.



А



Б

Рис. 2. Визначення мінімальної бактерицидної/фунгіцидної концентрації (МВС/МФС) змієголовника молдавського відносно тест-культур мікроорганізмів: А – вид ззовні, Б – вид зсередини

Висновки та перспективи подальшого дослідження. Таким чином, встановлено антимікробну дію 40 % спиртового екстракту змієголовника молдавського стосовно тест-культур мікроорганізмів – *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*. Стосовно *Pseudomonas aeruginosa* пригнічувальної дії екстракту не виявлено.

Отриманий екстракт змієголовника молдавського може бути запропонований для подальшого вивчення можливості виготовлення антибактеріальних та антифунгальних препаратів.

Враховуючи результати досліджень, бачимо перспективним подальше детальніше вивчення станольних екстрактів із трави змієголовника молдавського для розширення асортименту протимікробних рослинних препаратів.

Джерела та література

1. Антимикробная активность эфирных масел и водных извлечений из лекарственных растений Хакасии / С. В. Водолазова, М. А. Мядлец, М. Р. Карпова, Ю. В. Саранчина // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 26. № 2. – Вып 2. – С. 54–58.
2. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : метод. вказівки / Наказ МОЗ України № 167. – [Чинний від 2007-04-05]. – К. : МОЗ України, 2007. – 63 с.
3. Делова Г. В. Антибактериальные и антифунгальные свойства эфирных масел некоторых видов губоцветных / Г. В. Делова, И. Н. Гуськова // Комплексное изучение полезных растений Сибири. – Новосибирск : [б. и.], 1974. – С. 131–146.
4. Екстракція рослинної сировини : навч. посіб. / Ю. І. Сидоров, І. І. Губицька, Р. Т. Конечна, В. П. Новіков. – Львів : Вид-во Львів. політехніки, 2008. – 336 с.
5. Кораблева О. А. Полезные растения в Украине: от интродукции до использования / О. А. Кораблева, Д. Б. Рахметов. – Киев : Фитосоциоцентр, 2012. – 171 с.
6. Котюк Л. А. Біохімічні особливості *Dracocephalum moldavica* L. у зв'язку з інтродукцією в умовах Полісся України / Л. А. Котюк, О. М. Вергун, Д. Б. Рахметов // Экосистемы, их оптимизация и охрана. – Симферополь : ТНУ, 2012. – Вып. 7. – С. 159–166.
7. Котюк Л. А. Фунгіцидна активність екстрактів ефіроолійних рослин родини Lamiaceae Lindl. відносно *Fusarium oxysporum* / Л. А. Котюк, І. В. Івашенко // Біологічний вісник МДПУ. – 2013. – № 3. – С. 70–82.
8. Миллер Д. Эксперименты в молекулярной генетике / Д. Миллер : [под ред. С. И. Алиханяна]. – М. : Мир, 1976. – С. 394–395.
9. Никитина А. С. Исследование антимикробных свойств эфирного масла змієголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.), культивируемого в Ставропольском крае / А. С. Никитина, О. И. Попова, И. И. Клишина // Аптечный форум. От производителя до аптеки и потребителя. – М. : [б. и.], 2007. – С. 88–89.
10. Никитина А. С. Фармакогностическое изучение змієголовника молдавского (*Dracocephalum moldavica* L.) и иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis* L.) с целью обоснования применения в фармации и медицине : дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02 / Никитина Ангелина Сергеевна. – Пятигорск, 2008. – 210 с.
11. Особливості формування мікробіоценозів у ґрунтах під ароматичними рослинами / Н. Е. Елланська, Н. О. Гнатюк, О. П. Юношева, І. Г. Хохлова // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія : Біологічна. – 2010. – Вип. 27. – С. 29–33.
12. Перспективы использования в медицинской практике эфиромасличных растений флоры Сибири / Г. И. Калинин, Т. П. Березовская, С. Е. Дмитрук, Е. Н. Сальникова // Химия растительного сырья. – 2000. – № 3. – С. 5–12.
13. Разработка и научное обоснование использования растительного сырья иссопа лекарственного и змієголовника молдавского / А. С. Никитина, А. И. Попова, И. В. Попов, Н. В. Никитина // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – С. 25–31.
14. Рослини з протимікробними властивостями [Електронний ресурс] / Н. Є. Стадницька, О. З. Комаровська-Порохнявець, Х. Я. Кішак [та ін.]. – Lviv : Polytechnic National University Institutional. – Repository. – Режим доступу : <http://cna.lp.edu.ua>
15. Токин Б. П. Целебные яды растений : повесть о фитонцидах / Б. П. Токин. – 3-е изд., испр. и доп. – Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1980. – 280 с.
16. Тульчинская В. П. Растения – против микробов / В. П. Тульчинская, Н. Г. Юргелайтис. – 2-е изд., перераб. и доп. – Киев : Урожай, 1981. – 64 с.
17. Украинская коллекция микроорганизмов : каталог культур / под ред. В. С. Подгорского, О. И. Коцкофляк, Е. А. Киприановой, О. Р. Гвоздяк. – Киев : Наук. думка, 2007. – 270 с.
18. Ючак Л. Д. Адельопатія в агробіоценозах ароматичних рослин / Л. Д. Ючак. – К. : Фітосоціоцентр, 2005. – 411 с.
19. Abd El-Bacy Hanaa H. Chemical and biological evaluation of the essential oil of Egyptian moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) / H Hanaa Abd El-Bacy, Gamal S. El-Baroty // International Journal of Integrative Biology. – 2008. – Vol. 3. № 3. – P. 202–208.

20. Characterization of the Volatile Composition of Essential Oils of Some Lamiaceae Species and the Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Entire Oils / Biljana Bozin, Neda Mimica-Dukic, Natasa Simin, and Goran Anackov // American Chemical Society. – 2006. – Vol. 54. № 5. – P. 1822–1828.

Котюк Людмила. Изучение антимикробной активности этанольного экстракта травы *Dracocephalum moldavica* L. (Lamiaceae). Исследовано биологическую активность 40 % этанольного экстракта травы змееголовника молдавского, выращенной в условиях Полесья Украины, относительно золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), кишечной палочки (*Escherichia coli*), синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*) и кандиды белешущей (*Candida albicans*), которые являются патогенными по отношению к другим организмам. Показано, что экстракт травы *D. moldavica* характеризовался антимикробной активностью, поскольку экстрагированные вещества двукратно повышали показатели минимальной бактериостатической и минимальной бактерицидной концентрации этанольного экстракта относительно *S. aureus*. Относительно *C. albicans* двукратно повысился показатель минимальной бактериостатической концентрации. Действие данных веществ по отношению к *E. coli* характеризовалось усилением бактерицидного действия в два раза. На *P. aeruginosa* извлеченные вещества не влияли. Отмечено перспективность дальнейшего изучения этанольных экстрактов травы змееголовника молдавского с целью изготовления антибактериальных и антифунгальных растительных препаратов.

Ключевые слова: *Dracocephalum moldavica*, этанольный экстракт, минимальная бактериостатическая концентрация, минимальная бактерицидная концентрация.

Kotyuk Lyudmyla. The Study of Antimicrobial Activity of Ethanol Extract of the Herb *Dracocephalum moldavica* L. (Lamiaceae). The paper investigates the biological activity of 40 % ethanol extract of Moldavian dragonhead herb grown under the conditions of Ukrainian Polissya as to golden staphylococcus (*Staphylococcus aureus*), coliform bacillus *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* which are pathogenic in reference to other organisms. It has been shown that the extract of the herb *D. moldavica* was characterized by antimicrobial activity since extracted substances doubled the indices of minimal bacteriostatic and minimal bactericidal concentrations of ethanol extract *S. aureus*. Concerning *C. albicans*, the index of minimal bacteriostatic concentration increased two-fold. The activity of these substances with respect to *E. coli* was characterized by the doubled intensification of bactericidal effect. The extracted substances did not influence *P. aeruginosa*. The paper draws attention to the prospects of the further more detailed study of ethanol extracts of Moldavian dragonhead with the aim of producing antibacterial and antifungal herbal preparations.

Key words: *Dracocephalum moldavica*, ethanol extract, minimal bacteriostatic concentration, minimal bactericidal concentration.

Стаття надійшла до редколегії
25.04.2014 р.