

ПРОТИГРИБКОВА АКТИВНІСТЬ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ РОСЛИН РОДУ *GALIUM*. Повідомлення 1

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

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

Ключові слова: підмаренники; хлороформні фракції; гриби роду *Candida*; протигрибкова активність; терпеноїди

Досліджено протигрибкову активність хлороформних фракцій підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.) та підмаренника хрещатого (*Galium cruciata* (L.) Scop.) по відношенню до 10 тест-штамів грибів роду *Candida*: *C. albicans* ATCC 885/653, *C. parapsilosis* 488/10, *C. yamata* (*Debaryomyces hansenii*) 40 b/3, *C. rugosa* Скляр 27, *C. tropicalis* F-195, *C. tropicalis* 195, *C. utilis* (*Pichajadinii*) CCTM 991, *C. intermedia* Y-59, *C. intermedia* ATCC 14439 та *C. glabrata* 1712. Встановлено, що найбільш активною до більшості тест-штамів виявилась хлороформна фракція підмаренника верболистого, який відрізняється меншим вмістом терпеноїдних сполук та жирних кислот. Виявлено залежність між вмістом суми основних груп БАР у фракціях та рівнем їх протигрибкової активності по відношенню до ряду використаних тест-культур грибів. Отримані результати свідчать про перспективність подальшого вивчення хлороформних фракцій трави підмаренників справжнього, хрещатого та верболистого для створення на їх основі протигрибкових засобів.

Широке застосування антибіотиків, цитостатиків, глюкокортикоїдів, трансплантація органів та інші лікувальні заходи призводять до щорічного зростання захворюваності на мікози [8-12]. З усіх грибкових інвазій не менше 96% займають гриби роду *Candida* як у формі дріжджоподібних клітин (бластоспор), так і псевдоміцелію [3, 6]. Традиційно при лікуванні кандидозів використовують синтетичні антимікотики, останніми роками — препарати групи триазолів (флуконазол, ітраконазол), які є препаратами вибору для лікування гострого і/або хронічного рецидивуючого кандидозу [3]. Серед протигрибкових засобів препарати рослинного походження складають незначну частку. Тому по-

шук субстанцій рослинного походження, які проявляють антимікотичну дію та мають незначні побічні ефекти, залишається актуальним завданням фармацевтичної науки.

Метою даної роботи стало дослідження протигрибкової активності ліпофільних (хлороформних) фракцій підмаренників (*Galium* L.) родини маренові (*Rubiaceae* Juss.) по відношенню до грибів роду *Candida*.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були хлороформні фракції, отримані методом вичерпної циркуляційної екстракції сировини хлороформом в апараті Сокслета із зразків повітряно-сухої трави 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 фракцій вивчали на 10 тест-штамах грибів роду *Candida*: *C. albicans* ATCC 885/653, *C. Parapsilosis* 488/10, *C. yamata* (*Debaryomyces hansenii*) 40 b/3, *C. rugosa* Скляр 27, *C. tropicalis* F-195, *C. Tropicalis* 195, *C. utilis* (*Pichajadinii*) CCTM 991, *C. intermedia* Y-59, *C. Intermedia* ATCC 14439 та *C. glabrata* 1712.

Ступінь антимікотичної активності фракцій досліджували в субфунгістатичних дозах (25% від мінімальної пригнічуючої ріст грибів концентрації). Дослідження протигрибкової активності проводилось методом дифузії в агар (метод “колодязів”) [7]. Ступінь чутливості грибів щодо ліпофільних фракцій оцінювали за розміром зон затримки їх росту. Мікробне навантаження складало 10⁷ мікробних клітин на 1 мл середови-

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

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

Таблиця 1

Протигрибкова активність хлороформних фракцій видів роду *Galium* L., n = 6

| Тест-штам | Затримка росту мікроорганізмів, мм (M±m) | | | | |
|--|--|----------------------------|------------------------|------------|-------------|
| | <i>Galium verum</i> | <i>Galium salicifolium</i> | <i>Galium cruciata</i> | флуконазол | хлорофіліпт |
| <i>C. albicans</i> ATCC 885/653 | * | 10,0±0,1 | 16,1±0,3 | 25,2±0,6 | 16,1±0,5 |
| <i>C. parapsilosis</i> 488/10 | 15,1±0,4 | * | 16,0±0,1 | 19,1±0,5 | 19,2±0,6 |
| <i>C. yamata</i> (<i>Debariomyces hansenii</i>) 40 b/3 | * | 21,1±0,1 | * | 20,1±0,5 | 17,1±0,5 |
| <i>C. rugosa</i> Скляр 27 | 16,2±0,5 | 21,1±0,2 | 17,1±0,5 | 19,2±0,6 | 19,2±0,6 |
| <i>C. tropicalis</i> F-195 | 16,1±0,1 | * | 19,1±0,5 | 15,2±0,4 | * |
| <i>C. tropicalis</i> 195 | 16,0±0,1 | * | 19,0±0,2 | 20,1±0,6 | * |
| <i>C. utilis</i> (<i>Pichajadinii</i>) CCTM 991 | 22,3±0,2 | 16,0±0,1 | * | 19,1±0,5 | * |
| <i>C. intermedia</i> Y-59 | 16,0±0,1 | 22,0±0,1 | 15,0±0,1 | 20,1±0,6 | * |
| <i>C. intermedia</i> ATCC 14439 | 18,0±0,2 | 19,1±0,1 | 14,3±0,1 | 21,2±0,7 | * |
| <i>C. glabrata</i> 1712 | 19,0±0,3 | * | 12,0±0,1 | 10,0±0,1 | * |

Примітка: * — затримка росту відсутня.

ща і визначалось 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 [2].

Результати та їх обговорення

Раніше нами було встановлено, що до складу хлороформних

фракцій підмаренників входять хлорофіли, каротиноїди, жирні кислоти та терпеноїди [1, 4-5]. Загальними для фракцій є: тетрадеканова кислота, гексагідрофарнезилцетон, пальмітинова кислота, фітол, гептакозан, сквален, нонакозан.

При дослідженні антимікробної активності встановлено (табл. 1), що до препарату порівняння флуконазолу чутливими є усі тест-штами за виключенням *Candida glabrata*; хлорофіліпт проявив активність по відношенню до 4 тест-культур: *C. Albicans*, *C. parapsilosis*, *C. yamata* та *C. rugosa*.

Досліджувані фракції порівнюваному впливають на ріст досліджуваних тест-штамів грибів.

По відношенню до *C. Albicans* помірну інгібуючу активність на рівні з хлорофіліптом показала витяжка з трави *G. Cruciata*.

C. Parapsilosis виявилась чутливою до фракцій *G. Verum* та *G. Salicifolium*; до *C. yamata* активнішою, ніж флуконазол та хлорофіліпт виявилась фракція *G. Salicifolium*.

До відношенню до *C. rugosa* активність проявляють усі досліджувані фракції, при цьому витяжка з *G. Salicifolium* перевищує активність флуконазолу і хлорофіліпту. До *C. tropicalis* вищу активність, ніж флуконазол проявляють витяжки з *G. Verum* та *G. Cruciata*.

C. Neoformans є нечутливою до досліджуваних фракцій; до *C. intermedia* Y-59 та *C. Intermedia* ATCC 14439 усі фракції проявили близьку за значеннями інгібуючу активність. До *C. glabrata* неактивною була фракція з *G. Salicifolium*, решта фракцій за активністю перевершувала флуконазол.

Таблиця 2

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

| Сума БАР | <i>C. parapsilosis</i> 488/10 | <i>C. tropicalis</i> F-195 | <i>C. tropicalis</i> 195 | <i>C. glabrata</i> 1712 | <i>C. intermedia</i> Y-59 | <i>C. intermedia</i> ATCC 14439 | <i>C. rugosa</i> Скляр 27 |
|----------------------|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| Терпеноїдні спирти | 0,98 | 1,0 | 1,0 | * | -0,99 | -0,83 | * |
| Жирні кислоти | * | 0,89 | 0,89 | * | * | -0,98 | * |
| Терпени | * | * | * | 0,97 | * | * | -0,90 |
| Терпени і терпеноїди | 0,90 | 0,94 | 0,94 | * | -0,94 | -0,95 | * |

Примітка: * — коефіцієнт кореляції нижче 0,80.

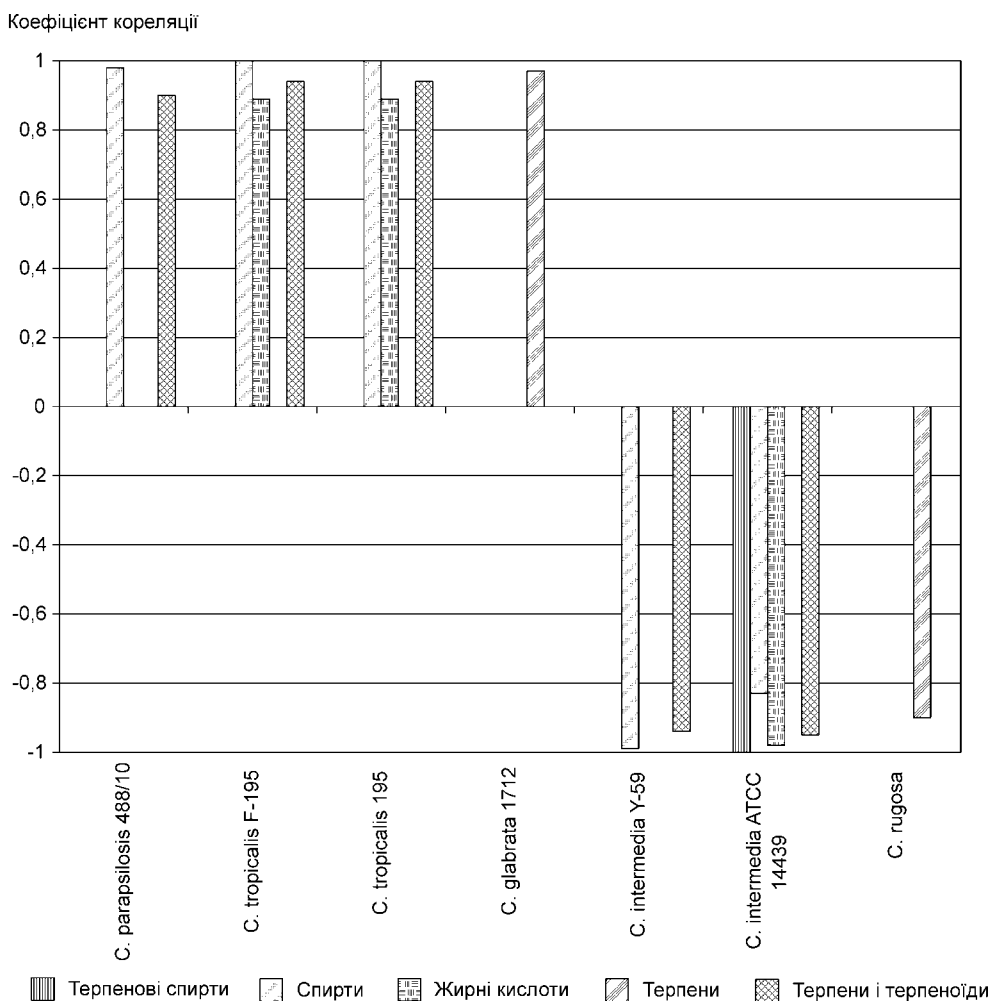


Рис. Кореляція між вмістом БАР фракцій підмаренників та рівнем протигрибкової активності

При порівняльному аналізі хімічного складу хлороформних фракцій та їх протигрибкової активності виявлено як пряму, так і зворотну кореляцію між вмістом основних груп біологічно активних речовин (БАР) та рівнем протигрибкової дії по відношенню до ряду тест-штамів (табл. 2, рис.).

Спостерігається пряма залежність: між вмістом терпенів у фракціях та ступенем їх активності по відношенню до *C. glabrata* 1712; спиртів — до *C. Parapsilosis* 488/10, *C. tropicalis* F-195, *C. tropicalis* 195; жирних кислот — до *C. tropicalis* F-195, *C. tropicalis* 195; суми терпенів і терпеноїдів — до *C. Parapsilosis*

488/10, *C. tropicalis* F-195, *C. tropicalis* 195.

Виявлено зворотну залежність між вмістом суми спиртів та ступенем активності по відношенню до *C. intermedia* Y-59 та *C. intermedia* ATCC 14439; терпенових спиртів — до *C. intermedia* ATCC 14439; жирних кислот — до *C. intermedia* ATCC 14439; терпенів — до *C. rugosa*; суми терпенів і терпеноїдів — до *C. intermedia* Y-59.

ВИСНОВКИ

1. Вперше досліджено протигрибкову активність хлороформних фракцій підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.) та підмаренника

хрещатого (*Galium cruciata* (L.) Scop.) по відношенню до 10 тест-штамів грибів роду *Candida*.

2. Встановлено, що досліджувані субстанції в цілому проявляють антимікотичну властивість. Найбільш активною до більшості використаних тест-штамів грибів виявилась фракція з підмаренника верболистого.

3. Виявлено кореляцію між вмістом суми основних груп БАР у досліджуваних фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності по відношенню до ряду використаних тест-культур грибів.

4. Отримані результати створюють основу для розробки з ліпофільних фракцій підмаренників протигрибкових засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. — М.: Практика, 2001. — 459 с.
2. Горяча О.В., Кашпур Н.В. //Актуальні питання сучасної медицини. — Міжнар. наук. конф. студ. і молодих учених. — 24-26 березня 2011 р. — 2011. — С. 55-56.
3. Запорожан В.М., Рожковська Н.М., Гладчук І.З. та ін. Діагностика та лікування інфекцій жіночих статевих органів: Метод. рекомендації. — К., 2004. — 31 с.
4. Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В. //Укр. біофармац. журн. — 2009. — №5 (5). — С. 31-36.
5. Ільїна Т.В., Гриценко О.М., Горяча О.В., Ковальова А.М. //Зб. робіт КМАПО. — 2008. — Вип. 11, кн. 1. — С. 718-724.
6. Касабулатов Н.М. //РМЖ. — 2003. — Т. 2, №17. — С. 43.
7. Решедько Г.К., Стецюк О.У. //Клин. микробиол. и антимикробная химиотерапия. — 2001. — Т. 3, №4. — С. 348-355.
8. Fokkens W.J., Ebbens F., van Drunen C.M. //Immunol. Allergy Clin. North. Am. — 2009. — Vol. 29, №4. — P. 677-688.
9. Netea M.G., Brown G.D., Kullberg B.J., Gow N.A. //Nat. Rev. Microbiol. — 2008. — Vol. 6, №1. — P. 67-78.
10. Netea M.G., Gow N.A., Munro C.A. et al. //J. Clin. Invest. — 2006. — Vol. 116. — P. 1642-1650.
11. Segal B.H., Herbrecht R., Stevens D.A. et al. //CID. — 2008. — Vol. 47. — P. 674-683.
12. Ubeda A., Vazquez A.L., Gil C.L. //Enferm. Infect. Microbiol. Clin. — 2010. — Т. 28, Suppl. 2. — P. 42-48.

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

Надійшла до редакції 26.10.2011 р.