

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ СО₂-ЕКСТРАКТІВ ШАВЛІЇ ТА РОМАШКИ МЕТОДОМ *IN VITRO*

Ключові слова: антимікробна активність, тест-культури, метод серійних розведень, живильне середовище

Натепер спостерігається зростання інтересу до рослинної сировини як до джерела біологічно активних речовин (БАР). Останні знаходять широке застосування в різних галузях медицини [1–3]. Це обумовлено екологічною ситуацією та алергізацією населення. Тому розроблення нових вітчизняних лікарських засобів рослинного походження є актуальним.

Властивості надкритичних СО₂-екстрактів лікарської рослинної сировини в плані їх мікробіологічної активності практично поки невідомі, тому нами проведені дослідження щодо визначення антимікробної активності та оптимальної концентрації надкритичних екстрактів шавлії та ромашки у складі стоматологічного гелю.

Методи та об'єкти дослідження

Вивчення мікробіологічної активності екстрактів здійснювали трьома методами – індикаторних дисків, висівання на рідкому живильному середовищі і серійних розведень. Такий підхід дає змогу виключити можливий вплив методичних особливостей використовуваних методів на кінцевий результат експерименту.

Під час проведення експерименту з вивчення антимікробної активності екстрактів використовували такі культури мікроорганізмів: 1. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; 2. *Escherichia coli* ATCC 25922; 3. *Klebsiella pneumoniae* клінічний; 4. *Shigella sonnei* клінічний; 5. *Proteus vulgaris* 89; 6. *Proteus mirabilis* 87; 7. *Salmonella typhimurium* клінічний; 8. Гриби роду *Candida* (*Candida albicans* ATCC 10231); 9. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Для методу індикаторних дисків культури мікроорганізмів вирощували на м'ясопептонному агарі, гриби роду *Candida* – на середовищі Сабуро. Для розчинення екстрактів було використано етанол. Диски готували за загальноприйнятою методикою; контролем слугували диски, просочені етанолом. Добові агарові культури змивали стерильним фізіологічним розчином, розводили суспензію за стандартом мутності до 10 од. По 1 мл суспензії засівали газомом на чашки з м'ясопептонним агаром та середовищем Сабуро. На підсушену поверхню розкладали індикаторні диски, наносили по 0,05 мл розведень екстрактів. Посіви вміщували в термостат за температури 37 °С на 18–20 год, посіви з грибами роду *Candida* – за температури 22 °С на 5 діб. Під час обліку результатів визначали зони затримки росту культур мікроорганізмів навколо диску, що містив розведення екстрактів шавлії й ромашки.

У разі дослідження активності екстрактів на рідкому живильному середовищі культури мікроорганізмів засівали по 0,1 мл суспензії у фізіологічному розчині (змив з агару, стандартизований на 10 од. каламутності по оптичному стандарту мутності). В пробірки додавали по 1 мл екстракту. Суспензію ретельно перемішували стерильною піпеткою і вміщували в термостат за температури 37 °С на 24 год (у разі грибів роду *Candida* – до 5 діб за температури 22 °С). Після інкубації стандартизованою

петлею виконували висівання з усіх пробірок на відповідні живильні середовища. Результати враховували підрахунком колоній.

Дослідження методом серійних розведень здійснювали у відповідному до кожного мікроорганізму живильному середовищі.

Результати дослідження та обговорення

Результати експерименту методом індикаторних дисків наведено в табл. 1.

Т а б л и ц я 1

Антимікробна активність екстрактів шавлії та ромашки методом дисків

Культури мікроорганізмів	Концентрація, %									
	Ромашка					Шавлія				
	1,0	3,0	5,0	7,0	10,0	1,0	3,0	5,0	7,0	10,0
<i>Staph. aureus</i>	–*	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>E. coli</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>K. pneumoniae</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Shig. sonnei</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Prot. vulgaris</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Prot. mirabilis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Sal. typhimurium</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Pseud. aeruginosa</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>C. albicans</i>	–	–	10,2	10,8	11,0	–	8,2	12,4	12,6	12,8

П р и м і т к а: * – відсутність затримки росту.

Результати експерименту свідчать, що у разі використання дисків антимікробна активність виявляється в основному відносно грибів роду *Candida*, хоча теоретично екстракт шавлії міг би пригнічувати розвиток стафілокока золотистого. Цікавим виявилось те, що розвиток грибів роду *Candida* пригнічувався за порівняно низьких концентрацій екстракту на диску.

Недостатня антимікробна дія екстрактів може бути обумовлена їхньою слабкою дифузиею із диска в агар.

Антимікробну активність екстрактів шавлії та ромашки методом висівання на рідке живильне середовище наведено в табл. 2.

Т а б л и ц я 2

Антимікробна активність екстрактів шавлії та ромашки методом висівання на рідке живильне середовище

Мікроорганізми	Контроль	Шавлія	Ромашка
	Кількість колоній	Кількість колоній	Кількість колоній
<i>Staph. aureus</i>	Більше 1000	1	Більше 1000
<i>Pseud. aeruginosa</i>	Більше 1000	2	Більше 1000
<i>Sal. typhimurium</i>	Більше 1000	Більше 1000	Більше 1000
<i>K. pneumoniae</i>	Більше 1000	До 500	Більше 1000
<i>Shig. sonnei</i>	Більше 1000	До 500	Більше 1000
<i>E. coli</i>	Більше 1000	Більше 1000	Більше 1000
<i>Prot. vulgaris</i>	Більше 1000	До 400	Більше 1000
<i>Prot. mirabilis</i>	Більше 1000	До 400	Більше 1000
<i>C. albicans</i>	Більше 200	6	До 300

Наведені в табл. 2 результати підтверджують спостереження, що отримані в попередніх дослідах. Екстракт шавлії виявляє антимікробну активність відносно *Staph. aureus*, *Pseud. aeruginosa*, грибів роду *Candida*. Незначну активність екстракту шавлії виявлено щодо протеїв. Екстракт ромашки не виявляє антимікробної дії, принаймні щодо досліджених бактерій і грибів.

Антимікробну активність екстрактів шавлії та ромашки методом серійних розведень наведено в табл. 3.

Т а б л и ц я 3

Антимікробна активність екстрактів шавлії та ромашки методом серійних розведень

Найменування екстракту	Доза мкг/мл	Тест-культури								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Шавлія	1 000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	750	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	400	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	300	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ромашка	1 000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	750	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	400	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	300	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	200	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+

П р и м і т к а: «-» – відсутність затримки росту; «+» – наявність росту.

Аналіз даних, наведених в табл. 3 показав, що стосовно всіх тест-культур екстракти проявляють бактеріостатичну активність.

Мінімальна інгібуюча концентрація для CO₂-екстракту шавлії – 200 мкг/мл, для CO₂-екстракту ромашки – 400 мкг/мл.

Таким чином, проведені експерименти показали, що надкритичні екстракти можуть мати значну антимікробну активність. Дещо несподіваним виявився вплив екстракту шавлії на штам грибів роду *Candida*, але це може бути наслідком наявності в екстракті великого спектру біологічно активних сполук, які виділяються з вихідного рослинної сировини за допомогою діоксиду вуглецю, що знаходиться в надкритичному стані. Отримані результати дають змогу стверджувати, що надкритичні екстракти навіть з порівняно добре вивчених лікарських рослин можуть мати нові властивості, і саме тому ця робота має перспективу продовження.

В и с н о в о к

Проведені дослідження довели, що у разі створення нового стоматологічного гелю з CO₂-екстрактами для досягнення терапевтичного ефекту оптимальною є концентрація CO₂-екстракту ромашки 0,4% і екстракту шавлії – 0,2%.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Абокумов, В. И., Морозова С. С. Технология производства CO₂-экстрактов и их использование в косметике и бальнеологии / Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: Сб. науч. тр. - Пятигорск, 2008. - Вып. 63. - С. 102-104.
2. Ахметова С. Б. Антифунгальная активность эфирных масел растений флоры Казахстана / Там же. — Пятигорск, 2008. - Вып. 63. - С. 378.
3. Харчилава И. А. и др. Разработка геля с комплексом эфирных масел для лечения воспалительных заболеваний пародонта / Там же. - Пятигорск, 2005. - Вып. 60. - С. 160-161.

Надійшла до редакції 13. 08. 2012.

В. А. Ващук, С. В. Бирюкова, О. Б. Колоколова, Л. Л. Давтян

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ CO₂-ЭКСТРАКТОВ
ШАЛФЕЯ И РОМАШКИ МЕТОДОМ *IN VITRO*

Ключевые слова: антимикробная активность, тест-культуры, метод серийных разведений, питательная среда

Р Е З Ю М Е

В статье приведены результаты экспериментальных исследований антимикробной активности CO₂-экстрактов ромашки и шалфея. Установлена их оптимальная концентрация в составе стоматологического геля.

V. A. Vashchuk, S. V. Biryukova, O. B. Kolokolova, L. L. Davtyan

DETERMINATION OF OPTIMUM CONCENTRATION CO₂-EKSTRAKTOV
CLARY AND CAMOMILE BY METHOD OF *IN VITRO*

Key words: antimicrobial activity, test-cultures, microorganism, method of the serial breedings, nourishing environment

S U M M A R Y

The results of experimental researches of antimicrobial activity of CO₂ of extracts of Camomile and Clary are published in the article. Their optimum concentration is set in composition stomatological gel.