DOI: 10.34883/PI.2021.24.2.002 УДК 615.322:582.776.6

Шевчук С.В., Адамович Т.Г. Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Shevchuk S., Adamovich T. Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

Антимикробная и противогрибковая активность травы кипрея узколистного Epilobium angustifolium L.

Antimicrobial and Antifungal Activity of the Herb Epilobium Angustifolium L.

Резюме

Целью работы явилось изучение антимикробной и противогрибковой активности экстрактов травы кипрея узколистного, полученных при использовании водных и водно-спиртовых растворителей, с определением содержания суммы фенольных соединений спектрофотометрическим методом. Исследование выполняли с использованием метода диффузии в агар. В результате проведенных исследований установлено, что антимикробная активность экстрактов из травы кипрея узколистного в отношении штаммов бактерий Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enterica и Staphylococcus aureus прямо пропорциональна содержанию в них полифенольных соединений: наиболее выражена антимикробная активность у извлечения с наибольшим содержанием суммы фенольных соединений. Наиболее выраженная активность выявлена у экстракта, полученного при использовании 50%-ного спирта этилового, в отношении штамма золотистого стафилококка (зона задержки роста бактерий составила 19,00±0,08 мм), наименее выраженная – в отношении штамма сальмонелл (зона задержки роста бактерий составила 13,00±1,39 мм). Candida albicans проявила среднюю степень чувствительности в отношении извлечений, полученных с использованием 50% и 70%-ного спирта этилового, диаметры зон задержки роста составили 14,00±0,8 мм и 14,25±0,94 мм соответственно. В отношении отвара травы кипрея узколистного была проявлена более высокая степень чувствительности: диаметр зоны задержки роста составил 16,25±0,94 мм.

Ключевые слова: кипрей узколистный, иван-чай, антимикробная активность, противогрибковая активность.

- Abstract –

The aim of the work was to study the antimicrobial and antifungal activity of the extracts of the herb Epilobium angustifolium L., obtained using aqueous and aqueous-alcoholic solvents, with the determination of the content of the sum of phenolic compounds with the help of spectrophotometric method. The study was carried out using the agar diffusion method. As a result of the studies, it was found that the antimicrobial activity of the extracts from the herb Epilobium angustifolium L. against bacterial strains Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enterica, and Staphylococcus aureus is directly proportional to the content of polyphenolic compounds in them:

the most pronounced antimicrobial activity is in the extraction with the highest content of the sum of phenolic compounds. The most pronounced activity was found in the extract obtained using 50% ethyl alcohol in relation to the Staphylococcus aureus strain (the zone of bacterial growth inhibition was 19.00 ± 0.8 mm), the least pronounced – in relation to the Salmonella strain (the zone of bacterial growth inhibition was 13.00 ± 1.39 mm). Candida albicans showed the average degree of sensitivity with respect to the extracts obtained using 50% and 70% ethyl alcohol; the diameters of growth inhibition zones were 14.00 ± 0.8 mm and 14.25 ± 0.94 mm, respectively. In relation to the decoction (1:10) of the herb Epilobium angustifolium L., a higher degree of sensitivity was showed: the diameter of the growth inhibition zone was 16.25 ± 0.94 mm.

Keywords: epilobium angustifolium, chamaenerion, antimicrobial activity, antifungal activity.

■ ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на высокий уровень стандартов оказания медицинской помощи, наличие современных синтетических лекарственных средств и передовых методов исследования и диагностики, инфекционные заболевания (бактериальные, вирусные, грибковые) остаются второй по значимости причиной смерти во всем мире [1]. Перспектива применения лекарственного растительного сырья в микробиологии и терапии заболеваний грибковой и бактериальной этиологии обусловлена прежде всего токсичностью традиционных противогрибковых и антибактериальных препаратов. Возникновение побочных эффектов, в том числе связанных с химиотерапевтическим действием (суперинфекция), а также наличие многочисленных противопоказаний ограничивает применение данных лекарственных средств у ряда пациентов. Наряду с этим важным преимуществом фитотерапии в сравнении с использованием традиционных химиотерапевтических препаратов является широкий спектр оказываемого действия и пролонгированный лечебный эффект растительных компонентов [2], благоприятное иммуномодулирующее действие лекарственных растений и положительное действие на состояние микробиоценозов различных биотопов макроорганизма человека. Установлено, что биологически активные соединения, такие как терпены или терпеноиды, эфирные масла, фенолы и феноловые кислоты, флавоноиды, танины, кумарины, лектины и полипептиды, оказывают выраженное антимикробное действие [3].

Среди перспективных соединений лекарственных растений наибольшую группу веществ, обладающих антимикробными и противогрибковыми свойствами, представляют фенольные соединения. Существует ряд теорий механизмов антимикробного действия полифенолов: повреждение цитоплазматической мембраны клеток, нарушение функций пенициллинсвязывающего белка, ингибирование β -лактамазы, ингибирование ДНК-гидразы бактерий, ингибирование цитоплазматических топоизомераз I и II и др. Однако достоверно неизвестно, какие именно биологически активные соединения обуславливают терапевтический эффект того или иного лекарственного растения, так как используемые экстракты содержат комплекс действующих веществ [4].

Актуальным является изучение антимикробной активности травы кипрея узколистного (Epilobium angustifolium L.). В качестве лекарственного растительного сырья наиболее часто находит применение

трава, однако допустимо и использование подземных органов растения. Издавна используется как противовоспалительное средство, при язвенной болезни желудка, в качестве онкопротектора, как витаминное средство и др. Широкий спектр применения кипрея узколистного обусловлен высоким содержанием биологически активных соединений. Надземная часть кипрея содержит полифенольные соединения полисахариды, аскорбиновую кислоту, катехины, кумарины и т. д. Установлено также наличие более 60 микро- и макроэлементов: Na, Mg, P, K, Ca, Si, Br, Li, B и др. [5].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение антимикробной и противогрибковой активности извлечений из травы кипрея узколистного, полученных при использовании водных и водно-спиртовых экстрактов, с определением содержания суммы фенольных соединений спектрофотометрическим методом.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве исследуемого образца использовалась трава кипрея узколистного, заготовленная в Минской области Республики Беларусь в 2018 году. Сушка сырья проводилась воздушно-теневым способом.

Объектом исследования служили водные и водно-спиртовые извлечения из травы кипрея узколистного.

Приготовление отвара проводилось в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Беларусь II [6]. Измельченное растительное сырье заливали водой (1:10) и настаивали на водяной бане при частом помешивании в течение 45 минут. Далее охлаждали при комнатной температуре в течение 15 минут и добавляли воду до необходимого объема извлечения.

Для приготовления исследуемого водного извлечения (1:100) измельченное сырье заливали водой и нагревали на водяной бане с обратным холодильником в течение 40 минут. Далее полученный экстракт фильтровали и охлаждали при комнатной температуре.

Получение водно-спиртовых извлечений из травы кипрея проводили путем их экстрагирования на водяной бане с обратным холодильником 50°, 70° и 96,5° спиртом в соотношении 1:100 в течение 40 минут, затем спирт отгоняли досуха, а сухие остатки растворяли в воде.

Количественное содержание суммы фенольных соединений в извлечениях травы кипрея узколистного определяли в пересчете на гиперозид методом спектрофотомерии с использованием комплексообразующего фосфорномолибденововольфрамового реагента [7].

Антимикробную и противогрибковую активность суммы БАВ из травы кипрея узколистного исследовали на четырех видах микроорганизмов: Escherichia coli (ATCC 25922), Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), Salmonella enterica (ATCC 6633) и Staphylococcus aureus (ATCC 25923), Candida albicans (ATCC 10231).

Исследование выполняли с использованием метода диффузии в агар. Для исследования применяли чистые культуры микроорганизмов, которые предварительно выращивали при температуре 37 °C в течение 24 часов на скошенном МПА. Стандартную бактериальную суспензию готовили на стерильном 0,9%-ном растворе натрия хлорида. Для этого

бактериологической петлей вносили исследуемую культуру в стерильный флакон со стерильным физраствором и доводили концентрацию микроорганизмов до оптической плотности 10 единиц по стандартам мутности ГИСК. Расплавленный и остуженный до 56 °C МПА разливали в чашки Петри. На застывший агар с помощью автоматической пипетки в стерильных условиях в чашки Петри вносили по 1 мл соответствующей взвеси микроорганизмов. После распределения микроорганизмов стерильным шпателем по всей поверхности агара инкубировали при комнатной температуре в течение 5–10 минут. Избыток культуры сливали в дезинфицирующий раствор. Затем на чашке с микроорганизмами делали 5 лунок диаметром 6 мм. Далее с помощью автоматической микропипетки в 4 лунки вносили по 20 мл исследуемого извлечения, в пятую лунку в качестве контроля вносили растворитель, на котором готовили извлечение. Пробы инкубировали при температуре 37 °C в течение 24 часов и оценивали рост микроорганизмов. Учет результатов проводили путем измерения диаметра зоны задержки роста бактерий вокруг лунок с извлечением [6].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе микробиологического анализа было установлено, что для всех извлечений из травы кипрея узколистного, полученных в результате использования спирта этилового, выявлена достаточно высокая активность в отношении всех изученных штаммов (табл. 1, 2).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии антимикробной активности у исследуемых извлечений травы Epilobium angustifolium L. в отношении практически всех взятых в опыт штаммов. Наиболее выраженная активность выявлена у экстракта, полученного при использовании 50%-ного спирта этилового, в отношении штамма золотистого

Таблица 1 Среднее значение зоны задержки роста микроорганизмов при использовании различных извлечений травы кипрея узколистного

	Контроль	Отвар	Водн. 1:100	Спирт 50%	Спирт 70%	Спирт 96,5%	
MM							
Escherichia coli	Сплошной рост	Сплошной рост	9,25±0,94	15,00±0,8	12,5±0,57	10,25±0,49	
Staphylococcus aureus	Сплошной рост	2,13±0,22	11,5±0,98	19,00±0,8	17,25±0,94	11,25±0,49	
Salmonella enterica	Сплошной рост	Сплошной рост	8,5±0,94	13,00±1,39	10,00±1,13	9,00±0,8	
Pseudomonas aeruginosa	Сплошной рост	12,00±0,8	8,75±0,94	17,25±1,23	14,75±0,94	7,75±0,49	

Table 1
The average value of the zone of inhibition of the growth of microorganisms when using various extracts of the herb Epilobium angustifolium L.

	Control group	Decoction	Water 1:100	Ethanol 50%	Ethanol 70%	Ethanol 96.5%	
mm							
Escherichia coli	Solid growth	Solid growth	9.25±0.94	15.00±0.8	12.5±0.57	10.25±0.49	
Staphylococcus aureus	Solid growth	2.13±0.22	11.5±0.98	19.00±0.8	17.25±0.94	11.25±0.49	
Salmonella enterica	Solid growth	Solid growth	8.5±0.94	13.00±1.39	10.00±1.13	9.00±0.8	
Pseudomonas aeruginosa	Solid growth	12.00±0.8	8.75±0.94	17.25±1.23	14.75±0.94	7.75±0.49	

стафилококка (зона задержки роста бактерий составила 19,00±0,8 мм), наименее выраженная – в отношении штамма сальмонелл (зона задержки роста бактерий составила 13,00±1,39 мм). Также стоит отметить высокую антимикробную активность экстракта, полученного при использовании 70%-ного спирта этилового, в отношении всех исследуемых штаммов. В отношении золотистого стафилококка зона задержки роста составила 17,25±0,94 мм, а для сальмонелл – 10,00±1,13 мм. Однако при использовании спирта этилового в концентрации 96,5% в качестве экстрагента антимикробная активность в некоторых случаях значительно снижается. Так, в отношении штамма сальмонеллы зона задержки роста составила 9,00±0,8 мм, в отношении золотистого стафилококка – 11,25±0,49 мм.

При исследовании извлечений, полученных при экстракции водой дистиллированной, было установлено, что при использовании соотношения сырье:экстрагент 1:100 антимикробная активность была более выражена в отношении всех исследуемых культур, чем в случае использования водного отвара, однако значительно уступала извлечениям, полученным с использованием спирта этилового. Отвар травы кипрея узколистного (1:10) в отношении штаммов культур кишечной палочки и сальмонеллы не проявляет антимикробную активность, а в отношении синегнойной палочки наблюдалась незначительна зона задержки роста (2,13±0,22 мм). При этом активность извлечения в отношении золотистого стафилококка превосходит экстракт, полученный с использованием 96,5%-ного спирта этилового (12,00±0,8 мм и 7,75±0,49 мм соответственно). Более выраженная антимикробная активность водного извлечения с соотношением сырья и экстрагента 1:100 по отношению к отвару травы кипрея узколистного связана с наличием оптимального соотношения сырья и экстрагента, которое обеспечивает разность концентрации при экстракции через толщину слоя сырья, т. е. необходимый градиент концентрации [8].

В ходе исследования противогрибковой активности различных извлечений травы кипрея узколистного в отношении грибов рода Candida было установлено, что используемый штамм обладает достаточно высокой степенью чувствительности в отношении исследуемых экстрактов.

Candida albicans проявила среднюю степень чувствительности в отношении извлечений, полученных с использованием 50% и 70%-ного спирта этилового, диаметры зон задержки роста составили

Таблица 2 Среднее значение зоны задержки роста грибов рода Candida при использовании различных извлечений травы кипрея узколистного

	Контроль	Отвар	Водн. 1:100	Спирт 50%	Спирт 70%	Спирт 96,5%
мм						
Candida albicans	Сплошной рост	16,00±0,022	8,75±0,04	14,00±0,013	14,5±0,035	10,25±0,021

Table 2

Average value of the zone of growth inhibition of fungi Candida, using various extracts of the herb Epilobium angustifolium L.

	Control group	Decoction	Water 1:100	Ethanol 50%	Ethanol 70%	Ethanol 96.5%	
mm							
Candida albicans	Solid growth	16.25±0.94	9.5±1.27	14.00±0.8	14.25±0.94	9.75±0.49	

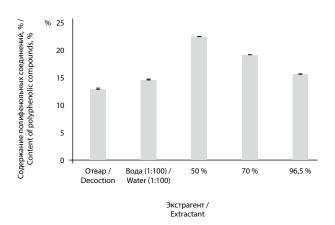
 $14,00\pm0,8$ мм и $14,25\pm0,94$ мм соответственно. В отношении отвара травы кипрея узколистного была проявлена более высокая степень чувствительности: диаметр зоны задержки роста составил $16,25\pm0,94$ мм. Водное извлечение (1:100) и экстракт, приготовленный с использованием 96,5%-ного спирта этилового, проявили слабую противогрибковую активность в отношении грибов рода Candida (зона задержки роста составила $9,50\pm1,27$ мм и $9,75\pm0,49$ мм соответственно).

Результаты количественного определения содержания полифенольных соединений спектрофотометрическим методом представлены на рисунке.

Исследования последних нескольких лет показали, что в антимикробных свойствах растительного сырья главную роль могут играть фенольные соединения. Антибактериальные и противогрибковые свойства обусловлены прямым разрушающим действием на клетку, в том числе и бактериальную [4].

Количественное содержание в получаемых извлечениях фенольных соединений и соответствующая биологическая активность во многом зависят от природы экстрагирующего вещества. Выделение фенольных соединений из растений проводится полярными растворителями, чаще всего водно-спиртовыми растворами. Полярность растворителя и условия экстракции имеют важное значение при определении способа максимального извлечения этих соединений из растительного сырья [9].

Таким образом, в ходе нашего эксперимента было установлено, что в извлечении, полученном при использовании 50%-ного спирта, содержание суммы фенольных соединений наибольшее и составляет 22,54±0,05%, что, возможно, и обуславливает выраженную антимикробную активность. Противогрибковое действие в отношении Candida albicans у водного извлечения, вероятно, связано с высоким содержанием димерного макроциклического эллаготанина энотеин В, который обладает фунгицидной активностью [10].



Содержание полифенольных соединений в траве кипрея узколистного Epilobium angustifolium L.

The content of polyphenolic compounds in herb Epilobium angustifolium L.

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что антимикробная активность экстрактов из травы кипрея узколистного в отношении штаммов бактерий Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enterica и Staphylococcus aureus прямо пропорциональна содержанию в них полифенольных соединений: наиболее выражена антимикробная активность у извлечения с наибольшим содержанием суммы фенольных соединений.

Однако высокое противогрибковое действие в отношении Candida albicans установлено у водного извлечения, что, вероятно, объясняется иным набором биологически активных соединений, экстрагируемых водой. В частности, это может быть связано с наличием димерного макроциклического эллаготанина энотеин В, который обладает фунгицидной активностью.

Участие авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала, написание текста – С.В. Шевчук; концепция и дизайн исследования, обработка, редактирование – Т.Г. Адамович.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА

- Nasrulaeva H.N. (2019) Osnovnye aspekty farmakoterapii gribkovyh zabolevanij kozhi i stop [The main aspects of pharmacotherapy of fungal diseases of the skin and feet]. Medicina. Sociologiya. Filosofiya. Prikladnye issledovaniya, no 5, pp. 40–44.
- Hotim E.N., Zhigalcov A.M., Appadu Kumara. (2016) Nekotorye aspekty sovremennoj fitoterapii [Some aspects of modern herbal medicine].
 Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universitetata, vol. 55, no 3, pp. 136–140.
- Mariin A.A., Kolomiec N.E. (2017) Lekarstvennye rasteniya i biologicheski aktivnye veshchestva protivogribkovogo dejstviya [Medicinal plants and biologically active substances of antifungal action]. Fundamental'naya i klinicheskaya medicina, vol. 4, no 2, pp. 45–55.
- Solyonova E.A., Nikolaevna Velichkovska L.N. (2017) Flavonoidy. Perspektivy primeneniya v antimikrobnoj terapii [Flavonoids. Prospects for application in antimicrobial therapy]. Acta Medica Eurasica, no 3, pp. 50–57.
- 5. Karomatov I.D., Turaeva N.I. (2016) Kiprej uzkolistyj, Ivan-chaj [Narrow-leaved fireweed, Ivan-tea]. Biologiya i integrativnaya medicina, no 6, pp. 160–169.
- Leonova V.N., Popov I.V., Popova O.I., Zajcev V.P. (2019) Kolichestvennoe opredelenie summy fenol'nyh soedinenij v plodah Rhus typhina(L.)
 [Quantification of the sum of phenolic compounds in the fruits of Rhus typhina (L.)]. Himiya rastitel'nogo syr'ya, no 1, pp. 225–232.
- 8. Polezhaeva I.V. (2007) Izuchenie ekstraktov nadzemnoj chasti Chamaenerion angustifolium (I) Holub [Study of the extracts of the aerial part of Chamaenerion angustifolium (I) Holub]. Vestnik KrasGAU, no 3, pp. 91–94.
- Hayouni, El Akrem & Abderrabba, Manef & Bouix, Marielle & Hamdi, Moktar. (2007) The effect of solvents and extraction method on the phenolic
 contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus coccifera L. and Juniperus phoenicea L. fruit extracts. Food Chemistry, no 105,
 pp. 1126–1134. doi:10.1016/j.foodchem.2007.02.010.
- Ducrey (1977) Inhibition of 5-alpha-reductaseandaromatasebythe ellagitannins oenothein A and oenothein B from Epilobium species. Planta Med, no 63, pp. 111–114.

Поступила/Received: 22.01.2021

Контакты/Contacts: sheuchuksv@gmail.com