

ПЕРВИННИЙ МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ ЕКСТРАКТІВ ПОЛІФЕНОЛІВ, ВИДІЛЕНИХ З РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Осолодченко Тетяна¹, Андрєва Ірина¹,
Комісаренко Микола²,
Завада Надія¹, Рябова Ірина¹

¹ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І.
Мечникова Національної академії медичних наук
України»

²Національний фармацевтичний університет

Інфекційні та гнійно-запальні захворювання складають значну питому вагу у загальній структурі захворюваності [1]. Антибактеріальним хіміопрепаратам належить провідна роль в профілактиці та лікуванні захворювань мікробного генезу. В умовах постійно прогресуючої резистентності мікроорганізмів до антибактеріальних хіміопрепаратів [2], [3] фахівці все частіше звертаються до природних засобів лікування, зокрема, до рослин, що володіють антибактеріальним ефектом [4]. У класифікації рослинних біологічно активних речовин провідне місце займають поліфеноли. Рослинні поліфенольні сполуки в тому або іншому ступені мають біологічну активність надзвичайно широкого спектру дії, що обумовлено різноманітністю їх хімічної будови [5].

Мета роботи – дослідження протимікробних властивостей поліфенольних сполук рослинного походження шляхом первинного мікробіологічного скринінгу.

Матеріали та методи

Проведено первинний мікробіологічний скринінг 74 густих екстрактів поліфенолів, що були виділені з рослинної сировини, а саме з деревини, навколопліднику та сухих плодів абрикосу звичайного (*Prúnus armeniaca*), лози та листя винограду культурного (*Vitis vinifera*), деревини, листя та плодів малини звичайної (*Rubus idaeus*), деревини та листя смородини чорної (*Ribes nígrum*), деревини та листя вишні звичайної (*Prunus cerasus*), гілок з бруньками верби прутовидної (*Salix viminalis*), деревини та плодів шипшини собачої (*Rosa canina*), листя шпинату городнього (*Spinacia oleracea*), листя евкаліпту прутовидного (*Eucalyptus viminalis*). Екстракцію фенольних сполук, їх детектування та аналіз отриманих екстрактів проведено на базі Національного фармацевтичного університету МОЗ України. Для дослідження готувались густі екстракти рослинних поліфенолів [6]. Екстракція поліфенолів з рослинної сировини проведена за методом мацерації при кімнатній температурі впродовж 14 діб. У якості екстрагентів застосовані етанол різних концентрацій, хлористий метилен, вода та хлороформ. Співвідношення рослинної сировини і екстрагента складало 1:1 (мас.: об.). Отримані витяжки піддавали очищенню, упарюванню впродовж 6-ти годин (з метою згущення отриманого екстракту та видалення

екстрагентів) та висушуванню при кімнатній температурі впродовж 24 годин. Наявність суми поліфенолів визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрах СФ-46 та СФ-56 при довжині хвилі 270 нм [7]. Отримані густі екстракти поліфенолів розчиняли у стерильній дистильованій воді та готували розчини: екстрактів поліфенолів *Vitis vinifera* – серію від 0,01 % до 10,0 %, екстрактів поліфенолів *Rubus idaeus* – 1,0 %, екстрактів поліфенолів решти досліджених рослин – 5,0 %.

Для мікробіологічних досліджень використано набір тест-штамів, який є загальноприйнятим при первинному визначенні протимікробної дії: *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. vulgaris* ATCC 4636. Протигрибкову дію речовин досліджено на референтному штамі *C. albicans* ATCC 885-653. Усі культури мікроорганізмів було одержано з лабораторії загальної мікробіології з Музеєм мікроорганізмів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України». Антимікробну активність досліджуваних зразків визначали дифузійним методом «колодязів» з вимірюванням діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів [8]. Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин (оптична щільність) проводили за допомогою стандарту каламутності (0,5 од. за шкалою McFarland) з використанням приладу Densi-La-Meter (виробництво PLIVALachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Суспензію готували згідно з інструкцією, що додається до приладу і інформаційного листа [9]. Мікробне навантаження становило 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4°C) [10]. У роботу брали 18-24-х годинну культуру мікроорганізмів. Для бактерій використовували агар Мюлера-Хінтона, для *C. albicans* – агар Сабуро. При оцінці антибактеріальної активності досліджуваних рослинних екстрактів застосовували такі критерії: відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказує на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеного в лунку препарату або концентрації антимікробної речовини; зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на малу чутливість культури до випробовуваної концентрації антимікробної речовини; зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінюються, як показник помірної чутливості мікроорганізму до концентрації випробовуваної речовини; зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до випробовуваної концентрації антимікробної речовини [8]. Експерименти проведені у трьох повторах. Статистичну обробку результатів проводили з використанням загальноприйнятих методів параметричної статистики [11].

Результати та обговорення

Більшість з 36 досліджених зразків екстрактів поліфенолів з абрикосу звичайного (*Prúnus armeniaca*)

володіла помірною протимікробною активністю щодо усіх досліджених референт-штамів мікроорганізмів (таблиця 1). Досліджено по 12 зразків екстрактів поліфенолів, виділених з деревини, навколоплідника та сухих плодів абрикосу звичайного. Переважна більшість екстрактів поліфенолів з навколоплідника абрикосу були високо та помірно активними стосовно грамположитивних мікроорганізмів – 66,7 % щодо *S.aureus* ATCC 25923 та 91,7 % щодо *B. subtilis* ATCC 6633. Близькою виявилась дія екстрактів поліфенолів навколоплідника абрикосу стосовно грамнегативних мікроорганізмів. Серед них 83,3 % були високо та помірно активними щодо *E. coli* ATCC 25922 та 66,7 % – щодо *P. vulgaris* ATCC 4636. Половина досліджених екстрактів навколоплідника абрикосу звичайного також проявили високу або помірну активність стосовно *P. aeruginosa* ATCC 27853 та *C. albicans* ATCC 885-653. Найактивнішими виявились поліфенольні сполуки, екстраговані з навколоплідника абрикосу звичайного за допомогою 70,0 % та 96,0 % етанолу з додаванням соляної кислоти. Вони проявили високу протимікробну активність стосовно усіх досліджених референтних штамів мікроорганізмів (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (25,0±0,8) мм до (31,7±1,2) мм). Третина (66,7 %) досліджених екстрактів з деревини абрикосу звичайного були високо або помірно активними стосовно *S.aureus* ATCC 25923 та 75,0 % – стосовно *B. subtilis* ATCC 6633 і *E. coli* ATCC 25922. Більше половини досліджених екстрактів з деревини абрикосу виявили високу або помірну протимікробну активність стосовно *P. vulgaris* ATCC 4636 та *P. aeruginosa* ATCC 27853. Тест-штам *C. albicans* ATCC 885-653 також виявив помірну та високу чутливість до половини досліджених екстрактів з деревини абрикосу. Найактивнішими виявились поліфеноли, екстраговані з деревини абрикосу звичайного за допомогою 10,0 % етанолу в комбінації з соляною кислотою. Вони проявили високу протимікробну активність стосовно усіх досліджених референтних штамів мікроорганізмів (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (26,3±0,5) мм до (30,3±0,5) мм). Усі 100,0 % екстрактів сухих плодів абрикосу звичайного проявили високу або помірну протимікробну активність стосовно усіх досліджених референтних штамів мікроорганізмів. При цьому найактивнішими вони виявились стосовно тест-штаму *B. subtilis* ATCC 6633 – більше половини зразків (58,3 %) проявили високу протимікробну дію стосовно даного тест-штаму, решта зразків – помірну дію. Отже, за результатами досліджень антибактеріальних властивостей екстрактів, виділених з абрикосу звичайного, найактивнішими були екстракти поліфенолів з навколоплідника абрикосу звичайного, екстраговані за допомогою 70,0 % та 96,0 % етанолу в комбінації з соляною кислотою.

Проведені дослідження протимікробної активності 10-ти зразків екстрактів поліфенольних сполук, які були вилучені з малини звичайної (*Rubus idaeus*) віком від 3-х до 5-ти років. Досліджені по 2 зразки екстрактів фенольних сполук, виділених з деревини та листя, 4 зразки екстрактів макухи ягід та 2

зразки суміші екстрактів макухи ягід та деревини малини звичайної. Результати досліджень наведені у таблиці 2. За результатами проведених досліджень встановлено, що ступінь чутливості тест-штамів грамположитивних та грамнегативних мікроорганізмів до переважної більшості екстрактів поліфенолів з малини звичайної був помірним. Висока чутливість щодо *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 та *P. aeruginosa* ATCC 27853 встановлена для 20,0 % досліджених зразків, щодо *B. subtilis* ATCC 6633 – для 40,0 %, щодо *P. vulgaris* ATCC 4636 – для 10,0 %. Половина досліджених екстрактів поліфенолів малини звичайної виявила високу антикандидозну дію. Щодо *C. albicans* ATCC 885-653 найактивнішими виявились водні екстракти з деревини і листя малини, а також водний та спиртовий екстракти макухи ягід малини (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (26,7±0,5) мм до (33,7±0,9) мм). Найактивнішими виявились поліфеноли, екстраговані з деревини та листя малини звичайної за допомогою води з додаванням емульгатору твін-80. Вони проявили високу протимікробну активність стосовно майже усіх досліджених референтних штамів мікроорганізмів (діаметри зон затримки росту в діапазоні від (24,3±0,5) мм до (34,3±0,5) мм). Проведено первинний мікробіологічний скринінг 16 зразків екстрактів поліфенольних сполук, виділених з винограду культурного (*Vitis vinifera*), а саме по 8 зразків екстрактів з листя та лози винограду з різним ступенем розведення (таблиця 3). Встановлена висока чутливість усіх досліджених референт-штамів мікроорганізмів стосовно цілісних екстрактів як з листя, так і з лози винограду культурного. При цьому найчутливішими до екстрактів поліфенолів, виділених з винограду, виявились тест-штами грамположитивних мікроорганізмів (*S.aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633) (діаметри зон затримки росту у діапазоні від (35,3±0,5) мм до (37,7±0,5) мм). Майже аналогічною виявилась дія досліджених екстрактів стосовно тест-штаму *E. coli* ATCC 25922. Діаметр зони затримки росту *E. coli* ATCC 25922 під впливом нерозведеного екстракту з листя винограду становив (34,0±0,8) мм та нерозведеного екстракту з лози винограду – (35,6±0,9) мм. Щодо інших штамів грамнегативних мікроорганізмів (*P. Vulgaris* ATCC 4636, та *P. aeruginosa* ATCC 27853) та грибів *C. albicans* ATCC 885-653 активність цілісних екстрактів винограду звичайного була дещо нижчою (діаметри зон затримки росту у межах (24,7±0,5) мм – (28,0±0,8) мм). Екстракти поліфенолів лози винограду аж до розведення 0,05 % здійснювали помірний протимікробний ефект щодо усіх досліджених тест-штамів мікроорганізмів. Проте екстракти з листя винограду проявляли помірну протимікробну активність лише до розведення до 5,0 %. Отже, за результатами первинного мікробіологічного скринінгу 16 спиртових витягів винограду культурного для подальших досліджень обрані цілісні екстракти з лози та листя, екстраговані за допомогою етанолу 96,0 %.

Таблиця 1. Протимікробна активність екстрактів поліфенольних сполук, виділених з абрикосу звичайного (*Prúnus armeniáca*)¹⁾

№ п/п	Частина рослини	Екстрагент	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)						
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 653-885	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	Розчинник (вода дистильована)	–	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання
2	Навколоплідник абрикосу звичайного	етанол 10,0 %	12,0±0,8	17,3±1,2	12,0±0,8	11,7±1,2	11,7±0,5	12,3±0,5	
		етанол 10,0 %+ HCl	13,0±0,8	17,7±0,5	15,0±0,8	14,3±0,5	13,0±0,8	13,3±1,2	
		етанол 30,0 %	14,7±0,5	18,3±0,5	16,0±0,8	16,0±0,8	12,3±0,5	15,0±0,8	
		етанол 30,0 %+ HCl	20,3±0,5	22,0±0,8	20,0±0,8	21,3±1,2	17,3±0,5	16,7±0,5	
		етанол 50,0 %	18,0±0,8	19,3±1,2	19,3±0,5	18,0±0,8	14,3±0,5	11,7±0,5	
		етанол 50,0 %+ HCl	16,7±0,5	21,3±1,2	16,3±0,5	19,0±0,8	17,0±0,8	16,3±0,5	
		етанол 70,0 %	15,0±0,8	17,3±1,2	зростання	зростання	зростання	зростання	
		етанол 70,0 %+ HCl	30,3±0,5	31,7±1,2	27,0±0,8	25,0±0,8	29,0±0,8	28,3±0,5	
		етанол 96,0 %	18,7±0,9	19,0±0,8	17,3±0,5	14,7±0,9	27,7±0,5	27,7±0,5	
		етанол 96,0 %+ HCl	25,3±0,5	30,7±0,5	27,0±0,8	26,3±1,2	28,7±0,5	30,0±0,8	
		хлористий метилен	20,3±0,5	20,3±0,5	19,3±1,2	21,3±0,5	21,0±0,8	14,7±0,5	
		хлористий метилен + HCl	14,3±0,5	14,3±0,5	15,0±0,8	16,0±0,8	зростання	14,3±0,5	

Кінець таблиці 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
3	Деревина абрикосу звичайного	етанол 10,0 %	14,3±0,5	12,0±0,8	зростання	зростання	зростання	13,0±0,8
		етанол 10,0 %+ HCl	28,3±0,5	30,3±0,5	26,7±0,5	26,3±0,5	29,3±1,24	29,0±0,8
		етанол 30,0 %	13,0±0,8	20,0±0,8	13,7±0,5	12,3±0,5	13,3±0,5	14,3±0,5
		етанол 30,0 %+ HCl	23,0±0,8	25,7±0,5	21,0±0,8	20,3±0,5	23,0±0,8	20,3±0,5
		етанол 50,0 %	11,7±1,2	15,7±0,5	зростання	12,7±0,5	13,0±0,8	13,3±1,2
		етанол 50,0 %+ HCl	23,3±0,5	23,7±1,2	21,3±1,2	21,7±0,5	22,3±0,5	23,7±0,5
		етанол 70,0 %	17,0±0,8	21,0±0,8	15,3±0,5	17,0±0,8	18,3±0,5	14,3±0,5
		етанол 70,0 %+ HCl	18,7±0,9	25,0±0,8	17,7±0,5	20,3±0,5	20,0±0,8	20,3±1,2
		етанол 96,0 %	23,7±0,9	21,0±0,8	21,3±0,5	22,7±0,5	23,0±0,8	19,3±0,5
		етанол 96,0 %+ HCl	18,3±0,5	24,3±0,9	23,3±1,2	18,7±0,9	20,3±1,2	23,7±0,5
		хлористий метилен	17,3±1,2	14,3±0,5	15,3±0,5	зростання	12,0±0,8	зростання
		хлористий метилен + HCl	зростання	13,3±0,5	15,3±1,2	зростання	13,0±0,8	зростання
4	Сухі плоди абрикосу звичайного	етанол 10,0 %	18,7±0,5	26,7±0,5	24,0±0,8	20,7±0,5	20,0±0,8	20,3±0,5
		етанол 10,0 %+ HCl	16,3±0,5	30,0±0,8	25,0±0,8	23,7±0,5	19,7±1,2	23,7±0,5
		етанол 30,0 %	16,3±0,5	31,3±1,2	26,0±0,8	24,3±0,5	18,3±0,5	20,0±0,8
		етанол 30,0 %+ HCl	18,7±0,5	29,3±0,5	23,7±0,5	27,0±0,8	23,7±0,5	24,0±0,8
		етанол 50,0 %	20,6±0,5	24,3±0,5	20,7±0,9	24,0±0,8	19,3±0,5	20,0±0,8
		етанол 50,0 %+ HCl	22,6±0,9	25,3±0,5	25,0±0,8	24,3±0,5	25,3±1,2	24,0±0,8
		етанол 70,0 %	21,0±0,8	27,0±0,8	23,3±1,2	24,7±0,5	24,3±0,5	21,0±0,8
		етанол 70,0 %+ HCl	22,7±0,9	25,7±0,5	21,7±0,5	24,3±0,5	24,7±0,5	23,3±0,5
		етанол 96,0 %	18,7±0,5	23,7±1,2	20,3±0,5	23,0±0,8	24,0±0,8	23,7±0,9
		етанол 96,0 %+ HCl	20,3±0,5	25,0±0,8	18,3±0,5	24,0±0,8	24,7±0,5	23,0±0,8
		хлористий метилен	17,7±0,5	21,7±0,5	20,7±0,9	23,7±0,5	21,3±0,9	16,7±0,5
		хлористий метилен + HCl	18,3±1,2	20,7±0,5	19,3±0,5	17,0±0,8	16,7±0,5	16,3±0,5

1) Вміст екстракту поліфенолів у кожному розчині 5,0 %

Таблиця 2. Протимікробна активність екстрактів поліфенолів, виділених з малини звичайної (*Rubus idaeus*)¹⁾

№ п/п	Частина рослини	Екстрагент	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)					
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C.albicans</i> ATCC 653- 885
1	Розчинник (вода дистильована)	–	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання
2	Деревина малини звичайної	етанол 96,0 %	18,0±0,8	20,3±0,5	17,3±0,5	17,3±0,5	21,0±0,8	18,3±0,5
		вода 96,0 %; твін-80 3,0 %	29,7±0,5	34,3±0,5	29,3±0,5	24,3±0,5	25,3±0,5	30,3±0,5
3	Листя малини звичайної	етанол 96,0 %	23,3±0,5	22,7±0,5	20,3±0,5	17,7±0,5	19,3±0,5	20,3±0,5
		вода 96,0 %; твін-80 3,0 %	29,7±0,5	33,7±0,5	28,7±0,9	27,3±0,5	26,7±0,5	26,7±0,5
4	Макуха ягід малини звичайної	етанол 96,0 %	21,7±0,5	25,3±0,5	21,7±0,5	20,3±0,5	24,7±0,5	33,7±0,9
		вода 96,0 %; твін-80 3,0 %	18,7±0,5	24,7±0,5	17,7±0,5	19,3±0,5	23,0±0,8	29,3±0,5
		вода 96,0 %; ПЕГ-40гро 3,0 %	18,3±0,5	21,0±0,8	17,3±0,5	18,3±0,5	21,0±0,8	29,7±0,5
		вода 99,0 %	18,7±0,5	23,7±0,5	17,7±0,5	16,7±0,5	20,7±0,5	24,7±0,5
5	Суміш екстрактів макухи ягід : деревини малини звичайної 1:1	етанол 96,0 %	20,3±0,5	25,3±0,5	20,3±0,5	17,7±0,5	20,0±0,8	24,3±0,5
6	Суміш екстрактів макухи ягід: деревини малини звичайної 2:1	етанол 96,0 %	20,3±0,5	24,3±0,5	20,7±0,9	18,3±0,5	21,0±0,8	18,3±0,5

¹⁾ Вміст екстракту поліфенолів у кожному розчині 1,0 %

Таблиця 3. Протимікробна активність екстрактів поліфенолів, вилучених з винограду культурного (*Vitis vinifera*)

№ п/п	Частина рослини	Концентрація поліфенолів у розчині	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)					
			<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 653-885
1	Розчинник (вода дистильована)	–	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання
2	Листя винограду звичайного	цілісний	35,3±0,5	35,3±0,5	35,6±0,9	28,0±0,8	27,7±0,5	25,0±0,8
		10,0 %	21,0±0,8	24,7±0,5	19,7±0,5	20,0±0,8	22,7±0,9	20,3±0,5
		5,0 %	18,0±0,8	24,7±0,5	18,0±0,8	18,7±0,5	22,0±0,8	20,0±0,8
		1,0 %	14,3±0,5	18,0±0,8	14,7±0,9	зростання	зростання	зростання
		0,5 %	14,3±0,5	16,3±0,5	14,0±0,8	зростання	зростання	зростання
		0,1 %	14,0±0,8	17,0±0,8	12,3±0,5	зростання	зростання	зростання
		0,05 %	12,7±0,5	13,0±0,8	зростання	зростання	зростання	зростання
		0,01 %	13,0±0,8	12,0±0,8	зростання	зростання	зростання	зростання
3	Лоза винограду звичайного	цілісний	37,7±0,5	35,7±0,9	34,0±0,8	27,0±0,8	25,7±0,5	24,7±0,5
		10,0 %	23,7±0,9	25,3±0,5	21,0±0,8	20,7±0,9	22,0±0,8	20,7±0,9
		5,0 %	22,0±0,8	21,7±0,5	22,0±0,8	20,7±0,9	20,3±0,5	19,0±0,8
		1,0 %	22,7±0,5	20,0±0,8	23,0±0,8	18,3±0,5	18,7±0,9	18,0±0,8
		0,5 %	22,7±0,9	18,0±0,8	22,7±0,5	16,0±0,8	15,7±0,5	15,3±0,5
		0,1 %	15,0±0,8	16,0±0,8	14,3±0,5	зростання	зростання	зростання
		0,05 %	12,0±0,8	15,7±0,9	13,7±0,5	зростання	зростання	зростання
		0,05 %	12,0±0,8	зростання	12,7±0,5	зростання	зростання	зростання

Таблиця 4. Протимікробна активність екстрактів рослин, які містять у якості провідної біологічно-активної групи флавоноїди ¹⁾

№ п/п	Назва рослини	Частина рослини	Екстрагент	Діаметр зони затримки росту, (M±m) мм, (n=3)					
				<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. albicans</i> ATCC 653-885
1	Розчинник(вода дистильована)	–	–	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання	зростання
2	Вишня звичайна	деревина	етанол 96,0 %	25,3±0,5	25,7±0,5	23,3±0,5	22,0±0,8	22,0±0,8	18,0±0,0
		листя	етанол 96,0 %	17,3±0,5	18,3±0,5	18,7±0,5	15,3±0,5	15,0±0,0	16,3±0,5
3	Верба прутковидна	гілки з бруньками	етанол 96,0 %	17,3±0,5	24,7±0,5	17,3±0,5	17,3±0,5	34,3±0,9	29,7±0,5
			вода – 96,0 % гвин 80 –3,0%	21,3±0,5	24,3±0,5	20,7±0,5	18,3±0,5	19,7±0,9	21,0±0,8
4	Шипшина собача	плоди	етанол 96,0 %	24,7±0,5	23,0±0,0	24,7±0,5	20,3±0,5	22,3±0,5	17,7±0,5
		деревина	етанол 96,0 %	18,7±0,5	23,3±0,5	17,3±0,5	15,7±0,5	22,3±0,5	17,3±0,5
5	Шпинат городній	листя	хлороформ	17,0±0,8	21,3±0,5	15,3±0,5	17,7±0,5	18,3±0,5	18,7±0,5
			хлороформ+ етанол 96,0 %	20,7±0,5	21,3±0,9	20,3±0,5	19,3±0,5	19,3±0,5	17,7±0,5
6	Смородина чорна	листя	етанол 96,0 %	25,3±0,5	25,7±0,7	18,7±0,5	20,3±0,5	19,3±0,5	18,7±0,5
		деревина	етанол 96,0 %	25,1±0,5	25,3±0,5	18,3±0,5	21,3±0,9	20,7±0,5	19,0±0,8
7	Евкالیпт прутковидний	листя	етанол 96,0 % + БАХ	18,7±0,5	25,0±0,5	18,3±0,5	16,3±0,5	20,6±0,9	25,3±0,5
			етанол 96,0 %	27,3±0,5	29,7±0,5	26,3±0,5	25,3±0,5	25,3±0,5	27,0±0,8

¹⁾ Вміст екстракту поліфенолів у кожному розчині 5,0 %

Проведено дослідження протимікробної активності 12-ти зразків екстрактів рослин, які містять у якості провідної групи біологічно-активних сполук флавоноїди, а саме спиртові екстракти поліфенолів з деревини та листя вишні звичайної (*Prunus cerasus*) (2 зразки), листя та деревини смородини чорної (*Ribes nigrum*) (2 зразки), плодів та деревини шипшини собачої (*Rosa canina*) (2 зразки), листя евкаліпту прутовидного (*Eucalyptus viminalis*) (2 зразки), листя шпинату городнього (*Spinacia oleracea*) (2 зразки), водяний та спиртовий екстракти з гілок з бруньками верби прутовидної (*Salix viminalis*) (по 1 зразку). Результати досліджень наведено у таблиці 4. Усі зазначені екстракти проявили переважно помірну протимікробну активність стосовно досліджених референтних штамів мікроорганізмів. Висока чутливість грампозитивних мікроорганізмів (*S.aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633) встановлена до спиртових екстрактів поліфенолів з деревини вишні звичайної, листя і деревини смородини чорної та листя евкаліпту прутовидного (діаметри зон затримки росту у діапазоні від (25,1±0,5) мм до (29,7±0,5) мм). Звертає на себе увагу висока активність спиртового екстракту поліфенолів верби прутовидної стосовно *P. aeruginosa* ATCC 27853 (діаметр зони затримки росту (34,3±0,9) мм) та *C. albicans* ATCC 885-653 (діаметр зони затримки росту (29,7±0,5) мм). Серед зазначених 12-ти екстрактів рослин, які містять у якості провідної групи біологічно-активних сполук флавоноїди, високу протимікробну активність щодо усіх досліджених референтних штамів мікроорганізмів проявив лише спиртовий екстракт з листя евкаліпту прутовидного (діаметри зон затримки росту у діапазоні від (25,3±0,5) мм до (29,7±0,5) мм).

Висновки

1. За результатами первинного мікробіологічного скринінгу 74 густих екстрактів поліфенолів, виділених з рослинної сировини, найактивнішими були густі екстракти навколоплідника абрикосу звичайного (екстрагенти 70,0 % та 96,0 % етанолу в комбінації з соляною кислотою); деревини та листя малини звичайної (екстрагент вода з додаванням твіну-80); листя евкаліпту прутовидного, гілок з бруньками верби прутовидної, деревини та листя смородини чорної, деревини та листя вишні звичайної, цілісні густі екстракти поліфенолів лози та листя винограду культурного (екстрагент етанол 96,0 %).
2. За результатами первинного мікробіологічного скринінгу для подальшого більш детального вивчення спектру і рівнів протимікробної активності обрано найперспективніші густі екстракти поліфенолів, виділені з рослинної сировини, з метою розробки на їх основі нових протимікробних засобів.

Primary microbiological screening of polyphenol extracts isolated from plant materials

Osolodchenko T. P., Andreieva I. D., Komisarenko M. A., Zavada N. P., Ryabova I. S.

Introduction. In the conditions of constantly progressing resistance of microorganisms to antibacterial chemotherapeutics the specialists turn to the natural

treatment approaches, especially towards plants that possess antibacterial activity. The aim of the work is to study the antimicrobial properties of polyphenolic compounds of plant origin by primary microbiological screening. **Materials & methods.** Primary microbiological screening of the 74 thick polyphenol extracts isolated from plant raw materials was performed. The extraction of polyphenols from plant raw materials was carried out by the method of maceration. Ethanol of various concentrations, methylene chloride, water and chloroform as extractants were used. The obtained extracts to purification and evaporation were subjected. The presence of the sum of polyphenols was determined by spectrophotometric method at a wavelength of 270 nm. For the primary screening standard test cultures of gram-positive and gram-negative bacteria were used that belonged to different taxonomic groups: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636. Antifungal activity of the compounds was studied for the reference strain of *Candida albicans* ATCC 885-653. Determination of antimicrobial and anticandidal activity of the new compounds was carried out with the help of the diffusion method of "wells" with the measurement of the diameters of the zones of growth retardation of microorganisms. **Results & discussion.** The primary microbiological screening of the of the 74 thick polyphenolic extracts isolated from plant raw materials has shown significant and moderate antimicrobial activity of the polyphenolic compounds against reference strains of gram-positive (*S.aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633) and gram-negative (*P. vulgaris* ATCC 4636, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853) microorganisms and antifungal activity against *Candida* spp. fungi (*C. albicans* ATCC 885-653). 66.7% of polyphenol extracts from apricot pericarp were highly and moderately active against *S. aureus* ATCC 25923, 91.7% - against *B. subtilis* ATCC 6633, 83.3% - against *E. coli* ATCC 25922 and 66.7% - against *P. vulgaris* ATCC 4636. Half of the studied extracts of pericarp of apricot ordinary also showed high or moderate activity against *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *C. albicans* ATCC 885-653. Among the 36 extracts of polyphenols from common apricot, the most active were polyphenolic compounds extracted from the pericarp of common apricot with 70.0% and 96.0% ethanol in combination with hydrochloric acid. They showed high antimicrobial activity against all studied reference strains of microorganisms (diameters of growth retardation zones in the range from (25.0 ± 0.8) mm to (31.7 ± 1.2) mm). 66.7% of apricot wood extracts were highly or moderately active against *S.aureus* ATCC 25923, 75.0% - against *B. subtilis* ATCC 6633 and *E. coli* ATCC 25922, over 50.0% - against *P. vulgaris* ATCC 4636, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *C. albicans* ATCC 885-653. All 100.0% of dried apricot fruit extracts showed high or moderate antimicrobial activity against all studied reference strains of microorganisms. High sensitivity to *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 was found for 20.0%, to *B. subtilis* ATCC 6633 - to 40.0%, to *P. vulgaris* ATCC

4636 - for 10.0% of the studied samples of extracts of raspberry polyphenols. Among the 10 samples of extracts of polyphenolic compounds extracted from raspberries the most active were polyphenols extracted from the wood and leaves of raspberries with water with the addition of emulsifier tween-80. They showed high antimicrobial activity against almost all studied reference strains of microorganisms (diameters of growth retardation zones in the range from (24.3 ± 0.5) mm to (34.3 ± 0.5) mm). According to the results of primary microbiological screening of 16 alcoholic extracts of cultivated grapes for further research whole extracts from vines and leaves, extracted with ethanol 96.0% were selected. The most sensitive to extracts of polyphenols isolated from grapes were test strains of gram-positive microorganisms (*S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633) (diameters of growth retardation zones ranging from (35.3 ± 0.5) mm to $(37, 7 \pm 0.5)$ mm). The effect of the studied extracts on the test strain of *E. coli* ATCC 25922 was almost similar. Among the studied 12 plant extracts, which contain flavonoids as the leading group of biologically active compounds, only alcohol extract from eucalyptus twigs showed high antimicrobial activity against all studied reference strains of microorganisms (diameters of growth retardation zones in the range from (25.3 ± 0.5) mm to (29.7 ± 0.5) mm). High sensitivity of gram-positive microorganisms has been established to alcohol extracts of polyphenols from cherry wood, blackcurrant leaves and wood and eucalyptus leaves (diameters of growth retardation zones in the range from (25.1 ± 0.5) mm to 29.7 ± 0.5) mm). High activity of alcoholic extract of willow against *P. aeruginosa* ATCC 27853 (diameter of the growth retardation zone (34.3 ± 0.9) mm) and *C. albicans* ATCC 885-653 (diameter of the growth retardation zone) (29.7 ± 0.5) mm) draws attention to itself. **Conclusion.** 1. According to the results of primary microbiological screening of 74 thick extracts of polyphenols, which were isolated from plant raw materials, the most active were thick extracts from the apricot pericarp (extractants 70.0% and 96.0% ethanol in combination with hydrochloric acid); from the wood and leaves of raspberry (extractant water with the addition of twin-80); from the leaf of eucalyptus, twigs with willow buds, wood and leaves of black currant, wood and leaves of cherry, whole thick extracts of polyphenols of vines and leaves of cultivated grapes (extractant ethanol 96.0%). 2. According to the results of primary microbiological screening for further more detailed study of the spectrum and levels of antimicrobial activity, the most promising thick extracts of polyphenols isolated from plant raw materials in order to develop new antimicrobial agents based on them were selected.

Keywords: extracts of plant polyphenols, microorganisms, antimicrobial activity

References

1. World Health Organization. (2019). World health statistics overview 2019: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/311696>.

2. Baym M., Stone L. K., Kishony R. Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance. *Science*. 2016. Vol. 351 (6268).
3. Brown D. Antibiotic resistance breakers: can repurposed drugs fill the antibiotic discovery void? *Nat. Rev. Drug Discov*. 2015. V.14. № 12. P. 821–832.
4. Khameneh B., Iranshahy M., Soheili. V., Fazly Bazzaz B. S. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2019. № 8. (118).
5. Voytsehivska O. V., Sitar O. V., Taran N. Yu. Phenolic compounds: diversity, biological activity, prospects of using The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University Series Biology. 2015. Vol. 1 (34). P.104–119.
6. Extraction of plant raw materials. Sidorov I.Yu., Hubytska I.I., Konechna R.T., Novikov V.P. Lviv : Publishing House National University "Lvivska Polytechnica", 2008. 334 p.
7. Komisarenko M. A., Heyderikh A. S., Kovaleva A. M., Koshovy O. M. The study of phenolic compounds of alcoholic extract from the leaves of *vaccinum vitis-idaea*. *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine*. 2012. V7. №2. P. 24-26.
8. The study of the specific activity of antimicrobial drugs: a method. recommendations / Y. L. Volyanskiy, I. S. Gritsenko, V. P. Shyrokobokov et al. K. : StEntScPhC Ministry of Helthcare of Ukraine, 2004. 38 p.
9. Standardization of the preparation of microbial suspensions : Newsletter of innovations in health care № 163-2006. Ministry of Health Care of Ukraine. Y. L. Volyanskiy, L. G.Mironenko, S. V.Kalinichenko and others. K. : Ukrmedpatentinform, 2006. 10 p.
10. Basnakyan I. A. Cultivation of microorganisms with desired properties. M.: Medicine, 1992. - P. 29-59.
11. Lapach S. M., Chubenko A. V., Babich P. M. Statistical methods in biomedical research using Excel. K.: Morion, 2000.320 p.