

## ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ МАРУНИ ЩИТКОВОЇ (*PYRETHRUM CORYMBOSUM* L. Sch. Bip.)

За інформацією бази The Plant List під *Pyrethrum* L. включає в себе більше 160 представників [11]. Це переважно багаторічні трави і чагарники, поширені в Середземноморському регіоні, Центральній і Південно-Західній Азії, а також в Північній Америці [4,7].

Пиретрум щитковий - багаторічна трав'яниста рослина, яка зазвичай досягає висоти від 50 до 100 см. Стовбур прямий і розкидано-волосистий. Листя складаються з трьох-семи пар видовжених подвійно надрізаних листочків. Нижнє листя черешкове, тоді як дуже маленьке верхнє - сидяче. У нещільному суцвітті зазвичай 3-10 кошиків. Квіткові кошики мають ширину від 15 до 30 мм; вони містять язичкові й трубчасті квіти. Приквітки бліді, зелені або світло-коричневі. Зигоморфні (мають тільки одну площину симетрії) язичкові квіти білі і лінійно-довгастої форми. Радіально симетричні трубчасті квітки жовті. Період цвітіння охоплює червень, липень, серпень.

Народна медицина застосовує рослини роду маруна в якості протизапальних, кардіотонічних, спазмолітичних та протимігренозних засобів. Встановлено наявність антиоксидантної та противірусної дії у *Tanacetum parthenium* [10]. Румунські вчені проводили дослідження антиоксидантної та цитотоксичної активності *Tanacetum corymbosum* (L.) Sch. Bip. та *Tanacetum macrophyllum* (Waldst. & Kit.) [8]. Хімічний склад рослин роду маруна не повністю вивчено. Так, українськими вченими за допомогою методів ТШХ та ВЕРХ було досліджено якісний склад та кількісний вміст фенольних сполук у траві *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. Виявлено наявність таких сполук як 3,5-дикафеоїлохінна, 4,5-дикафеоїлохінна та хлорогенова кислоти. Серед флавоноїдів кількісно переважали апігенін-7-глюкозид та кемпферол [1]. Турецькі науковці використовували метод ГХ/МС за допомогою колонки НР-

5MS для ідентифікації компонентів ефірної олії *Tanacetum parthenium* (L.) Sch. Bip. Основними складовими були камфора, хризантенілацетат та фарнезол [9].

Нами було досліджено та встановлено, що до хімічного складу маруни щиткової входять 42 сполуки (2 представлені в ізомерному стані), з яких ідентифіковано: терпеноїдів – 39.53%, гетероциклічних сполук – 34.75%, жирних кислот та їх похідних – 9.78%, вуглеводнів – 7.23%, спиртів – 5.61%, альдегідів та кетонів - 0.74%. Від загального вмісту всіх компонентів кількісно переважають такі сполуки як 2H-циклогепта[b]фуран-2-он,3,3a,4,7,8,8a-гексагідро-7-метил-3-метилен-6-(3-оксобутил),[3aR-(3a.α,7.β,8a.α)]- 24.46%, (+)-2-борнанон – 11.85%, біцикло[3.1.1]гепт-2-ен-6-ол,2,7,7-триметил-,ацетат,[1S-(1. α ,5. α ,6.β)]- 16.27% [6].

На сьогоднішній день найбільш вивчено хімічний склад та використання маруни дівочої. Хімічний склад маруни дівочої представлений переважно флавоноїдами, гідроксикоричними та органічними кислотами, сесквітерпеновими лактонами [3]. Трава маруни дівочої проявляє протизапальний, кардіотонічний, антипіретичний та спазмолітичний ефекти. У народній медицині ще здавна її активно застосовують у вигляді настоїв для лікування і профілактики мігрені, запаморочення, ревматоїдного артриту та інших запальних захворюваннях [4]. Зовнішньо рекомендують для лікування псоріазу, дерматитів, що супроводжуються свербінням, для обробки відкритих уражень шкіри, полоскання ротової порожнини після стоматологічних операцій [1].

Подальший огляд літератури показав, що хімічний склад та застосування такої рослини як *Pyrethrum corymbosum* (L.) Sch. Bip. вивчені недостатньо та потребують подальших досліджень. Тому мікробіологічне дослідження цієї рослини є актуальним.

### **Мета роботи**

Визначення антимікробної активності надземної частини маруни щиткової (*Pyrethrum corymbosum* (L.) Sch. Bip.) для визначення перспектив її застосування в медицині.

**Матеріали та методи.** Об'єкт дослідження маруни щиткової (*Pyréthrum corymbosum* (L.)Sch. Bip.) – трава, зібрана на території м. Запоріжжя у кінці липня 2019 р. Сировину екстрагували етиловим спиртом при кімнатній температурі протягом 10 днів згідно з методикою виготовлення настоек [2]. Для одержання екстракту застосовували метод чотирьохкратної мацерації при температурі 60°C. Співвідношення сировина : екстрагент (70% етанол) 1:50. Загальний час екстракції - 8 годин.

Було досліджено антимікробну активність етанольного екстракту та спиртової настойки піретруму щиткового на грампозитивні бактерії (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), грамнегативних бактерій (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) та дріжджі (*Candida albicans*).

При проведенні випробувань використовували живильні середовища відповідно до вимог ДФУ 2.0 [2].

Поживні середовища відповідали за ростовими, інгібіторними, індикативними властивостями та витримували випробування на стерильність відповідно до вимог ДФУ 2.0. Перелік та характеристика живильних середовищ наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Перелік поживних середовищ,  
що використовувались при аналізі та їх призначення

Назва живильного середовища (ПС)	Призначення
Буферний розчин з натрію хлоридом та пептоном рН 7,0 (БПР)	Підготовка тест-штамів бактерій цільового використання; приготування необхідних розведень.
Соєво-казеїновий агар (СКА)	Визначення загальної кількості аеробних мікроорганізмів
Соєво-казеїновий бульйон (СКБ)	Підготовка тест-штамів бактерій цільового використання. Приготування випробовуваного зразка при аналізі на антимікробну активність.

При проведенні випробування використовували тест-мікроорганізми відповідно до вимог ДФУ 2.0. Зберігання мікроорганізмів здійснювали відповідно до «Порядку одержання, обліку, зберігання та утримання тест-мікроорганізмів для проведення контролю якості лікарських засобів за

мікробіологічними показниками» [5]. Номер штаму вказує на те, що дана культура є еталоном при дослідженні лікарських засобів на фармацевтичному виробництві (таблиця 2).

Таблиця 2

Перелік тест-штамів мікроорганізмів та їх призначення

Назва тест-мікроорганізму	Номер штаму	Призначення
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	Перевірка антимікробної дії екстракту та настойки маруни
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 16404	

Для проведення випробування готували культури тест-мікроорганізмів відповідно до вимог ДФУ 2.0 (2.6.12, 2.6.13). Тест-мікроорганізми вирощували кожен окремо на відповідному живильному середовищі. Тест-штами бактерій вирощували на соєво-казеїновому бульйоні (СКБ) при температурі 30-35°C протягом 18-24 год.

Для ідентифікації мікроорганізмів використовували методи та рекомендації, які наведені в ДФУ 2.0 [2].

При визначенні загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів і дріжджових грибів висновки здійснювали за культуральними властивостями кожного з тест-мікроорганізмів на відповідних густих живильних середовищах.

**Визначення мікробіологічної чистоти досліджуваного матеріалу**

Перед початком дослідження було визначено мікробіологічну чистоту даних препаратів глибинним методом. Результати показали, що в досліджуваних матеріалах не було «сторонньої» мікрофлори.

Під час дослідження із вихідного матеріалу готували ряд дворазових серійних розведень (від 1:2 до 1:512) в соєво-казеїновому бульйоні (СКБ) об'ємом 10 мл, потім додавали у кожную пробірку по 0,1 мл мікробної зависі (мікробне навантаження до музейних штамів становило  $10^6$  м.к./мл).

Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) визначали за відсутністю видимого росту у пробірці з мінімальним розведенням досліджуваного зразку.

Мінімальну бактерицидну/фунгіцидну концентрацію (МБ<sub>ц</sub>К/МФ<sub>ц</sub>К) – за відсутності росту на агарі після висіву із прозорих пробірок.

Кожен дослід супроводжували контролем росту використовуваних тест-штамів та досліджуваного зразка екстракту. Додатково проводили контроль поживних середовищ та культур мікроорганізмів з використанням загальноприйнятних фармакопейних методик.

### Результати та їх обговорення

Як показують результати, вміст етилового спирту не впливав на культури, адже їх морфологія відповідала контролям на щільному поживному середовищі.

Таблиця 3

Показники росту культур в досліджуваних варіантах при відповідному розведенні зразка (екстракт)

Тест культура мікроорганізмів	№ пробірки та розведення										Ріст культур у контрольних варіантах		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	+К	Кс-а	Кзр.
	1*	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512			
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	в/р	в/р
<i>St. aureus</i> ATCC 6538	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>E. coli</i> ATCC 8739	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Примітки: 1)\* - нативний екстракт;  
 2) в/р – відсутність видимого росту;  
 3) «+» - наявність росту.

Показники росту культур в досліджуваних варіантах  
при відповідному розведенні зразка (настойка)

Тест культура мікроорганізмів	№ пробірки та розведення										Ріст культур у контрольних варіантах		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	+К	Кс-а	Кзр.
	1*	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512			
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	в/р	в/р
<i>St. aureus</i> ATCC 6538	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>E. coli</i> ATCC 8739	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

Примітки: 1)\* - нативний екстракт;

2) в/р – відсутність видимого росту;

3) «+» - наявність росту.

Контроль тест-штамів мікроорганізмів у СКБ мав «типовий» ріст.

При візуальному контролі експерименту у СКБ було виявлено у пробірках із штамом *B. subtilis* поверхневий ріст у всіх розведеннях, окрім першої (і в екстракті, і в настійці). Поверхневий ріст у пробірках із досліджуваним зразком відповідав контролю.

У пробірках із досліджуваним зразком та *St. aureus* було утворення осаду у пробірках з екстрактом і з настійкою. Можливо цей осад викликаний досліджуваним матеріалом, але у контролі екстракту він був відсутній. Дифузний ріст характерний для стафілококу був присутній у всіх пробірках.

*Ps. aeruginosa* мав поверхневий ріст із характерним запахом у всіх пробірках, окрім першої. Поверхневий ріст у пробірках із досліджуваним зразком відповідав контролю.

У пробірках із досліджуваним зразком та *C. albicans* було утворення осаду у пробірках контролю, а також з екстрактом і з настійкою.

У пробірках із досліджуваним зразком та *E. coli* було утворення осаду у пробірках контролю, а також з екстрактом і з настойкою.

Через 24 години пересівали із СКБ на поверхню СКА досліджувані зразки із тест-штамами та контролів культур, середовищ та матеріалів. Результати дослідження екстракту наведені у таблиці 5, настойки -у таблиці 6.

Таблиця 5

Показники росту культур на щільному середовищі в досліджуваних варіантах при відповідному розведенні зразка (екстракт)

Тест культура мікроорганізмів	№ пробірки та розведення										Ріст культур у контрольних варіантах		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	+К	Кс-а	Кзр.
	1*	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512			
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	в/р	в/р
<i>St. aureus</i> ATCC 6538	б/ст	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	б/ст	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	в/р	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>E. coli</i> ATCC 8739	б/ст	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

- Примітки: 1)\* - нативний екстракт;  
 2) в/р – відсутність видимого росту;  
 3) «+» - наявність росту;  
 4) б/ст – бактеріостатична дія матеріалу.

Таблиця 6

Показники росту культур на щільному середовищі в досліджуваних варіантах при відповідному розведенні зразка (настойка)

Тест культура мікроорганізмів	№ пробірки та розведення										Ріст культур у контрольних варіантах		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	+К	Кс-а	К зр
	1*	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512			
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	в/р	б/ст	+	+	+	+	+	+	+	+	+	в/р	в/р
<i>St. aureus</i> ATCC 6538	б/ст	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	б/ст	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
<i>C. albicans</i>	в/р	б/ст	б/ст	+	+	+	+	+	+	+	+		

ATCC 10231													
<i>E. coli</i> ATCC 8739	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		

- Примітки: 1)\* - нативний екстракт;  
 2) в/р – відсутність видимого росту;  
 3) «+» - наявність росту;  
 4) б/ст – бактеріостатична дія матеріалу.

Контроль середовища, а також досліджуваних зразків не мав росту.

При вивченні впливу на тест-штами досліджуваного матеріалу, пересіяного на щільне поживне середовище, було визначено, що нативний екстракт мав бактерицидну дію на *B. subtilis*, а у другому розведенні – бактеріостатичну дію. Настойка на цю ж саму культуру мала тільки бактерицидну дію у нативному стані.

На *St. aureus*, *Ps. aeruginosa* та *E. coli* тільки у нативному розчині об'єкт дослідження мав бактеріостатичну дію.

На тест-штам *C. albicans* розчини у нативному стані мають бактерицидну дію, а до 4-го розведення екстракт має бактеріостатичну дію (настойка до 2 розведення).

## Висновки

Екстракт та настойка пиретрума щиткового мають бактерицидну дію на *B. subtilis*, *C. albicans*. Бактеріостатичну дію вони мають на *St. aureus*, *Ps. aeruginosa*. Також бактеріостатичну дію проявляє екстракт на *B. subtilis* (1:2) та *C. albicans* (1:2, 1:4).

На *E. coli* бактеріостатичну дію проявила тільки настойка, екстракт ніяк не впливав на ріст даної культури.

Визначена дія екстракту та настойки маруни щиткової (*Pyrethrum corymbosum* (L.) Sch. Bip.) дає можливість їх застосування в медицині як додаткових засобів бактеріостатичної та бактерицидної дії.



## Література

1. Гордей К. Р. Вивчення фенольних речовин у траві маруни дівочої методом тонкошарової хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії / Гордей К. Р., Гонтова Т. М., Сербін А. Г., Котов А. Г., Котова Е. Е. // 2. Український біофармацевтичний журнал. — 2019. — № 3 (60). — С. 64-70.
2. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. — Т.1. — с.251-269, с. 310-314, 1015-1018.
3. Коновалова Д. С. Сесквитерпеновые лактоны пиретрума девичьего как биологически активные вещества / Д. С. Коновалова, Д. А. Коновалов // Экология человека. — 2008. — № 3. — С. 3–7.
4. Ильина Т. Большая иллюстрированная энциклопедия лекарственных растений / Т. Ильина. — М.: Эксмо, — 2011. — 320 с.
5. Наказ МОЗ України від 14.01.2004 року № 5 «Про затвердження Порядку одержання, обліку, зберігання та утримання тест-штамів мікроорганізмів для проведення контролю якості лікарських засобів за мікробіологічними показниками».
6. Панасенко О.І., Аксьонова І.І., Мозуль В.І., Денисенко О.М., Карпун Є.О., Лісунова О. А. Хромато-мас-спектроскопічне дослідження хімічного складу українських популяцій маруни щиткової // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. - 2020. - Т 13, №2 (33). - С. 237-243.
7. Iamónico D. Notes about *Tanacetum corymbosum* s. l. (Asteraceae) // *Collectanea Botanica*. — 2018. — № 37. — P. 413.
8. Ivănescu Bianca. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activity of *Tanacetum vulgare*, *Tanacetum corymbosum* and *Tanacetum macrophyllum* extracts / Bianca

Ivănescu, Cristina Tuchiluş, Andreia Corciovă, Cristina Lungu, Cosmin Teodor Mihai, Ana-Maria Gheldiu, Laurian Vlase // *Farmacia*. – 2018. – Volume 66, 2. – P. 282-288.

9. Mohsenzadeh F. Chemical composition, antibacterial activity and cytotoxicity of essential oils of *Tanacetum parthenium* in different developmental stages / F. Mohsenzadeh, A. Chehregani, H. Amiri // *Pharmaceutical Biology*. – Vol. 49, Iss. 9. – 2011.
10. Rezaei Farshid, Jamei Rashid, Heidari Reza. Evaluation of the Phytochemical and Antioxidant Potential of Aerial Parts of Iranian *Tanacetum parthenium* // *Pharmaceutical Sciences*. – 2017. – № 23. – P. 136-142
11. The Plant List Version 1 Web site (2020) accessed June 9, 2020, from <http://www.theplantlist.org>