

ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ СИРОВИНИ ЦИНІЇ ВИТОНЧЕНОЇ (*ZINNIA ELEGANS JACQ.*)

Ірина Тулуб, Надія Бурда

Національний фармацевтичний університет

Вступ

Ця робота є логічним продовженням дослідження сировини цинії витонченої (*Zinnia elegans* Jacq., родина айстрові (Asteraceae), яка була нами розпочата у попередніх роботах, присвячених фітохімічному вивченню [1-2]. Для всебічного та поглибленого вивчення цієї рослини доцільним було присвятити увагу видам фармакологічної активності.

З огляду літератури відомо, що представникам роду цинія (*Zinnia* L.) притаманна антимікробна та протигрибкова активність [3-4]. Зокрема закордонними науковцями досліджені антимікробні властивості етилацетатних та гексанових екстрактів із сировини цинії перуанської (*Zinnia peruviana* (L.) L.). Встановлено їх виражену антимікробну активність по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Listeria monocytogenes* CLIP 74910, *Escherichia coli* та *Bacillus cereus* [5]. Також проведені інші дослідження щодо вивчення ацетонових екстрактів листя, квіток та коренів цинії перуанської. Визначено, що найбільш ефективним екстрактом, що проявляв виражену антимікробну активність, був екстракт коренів [6].

Крім того, були проведені дослідження етанольних екстрактів з листя цинії витонченої у різних концентраціях щодо пригнічення росту деяких гнилісних грибів [7]. Результати є обнадійливими, тому актуальним є проведення більш детального вивчення атимікробної активності різних видів сировини цинії витонченої.

Метою роботи було вивчення антимікробної активності сировини цинії витонченої.

Матеріали та методи

Для проведення експерименту використовували траву, листя, квітки та стебла цинії витонченої, які заготовляли у фазі цвітіння в Україні (Харківська область) у серпні 2021-2022 р. Сировина представляє собою суміш сортів Карусель та Рожевий бріліант.

Для проведення експерименту наважку здрібненої на порошок сировини вміщували в конічну колбу і додавали екстрагент (вода та етанол різної концентрації). Співвідношення сировина : екстрагент – 1 : 5. Настоявали протягом 1 години при кімнатній температурі, далі витяги фільтрували та концентрували до густих екстрактів.

Мікробіологічні дослідження були проведені у лабораторії біохімії та біотехнології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМНУ».

У відповідності до рекомендацій ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653. Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалася за стандартом McFarland. До роботи брали 18-24-годинну культуру мікроорганізмів. Для досліджень використовували агар Мюллера-Хінтона.

Метод дифузії препарату в агар проводили «колодязями». Визначення антибактеріальної активності проводили на двох шарах цільного поживного середовища, яке було розлите в чашки Петрі. В нижньому шарі використовували «голодні» не засіяні середовища (агар-агар, вода, солі). Нижній шар представляв собою підложку висотою 10 мм, на яку строго горизонтально встановлювали 3-6 тонкостінних циліндра з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і 10 мм заввишки. Навколо циліндрів заливали верхній шар, який складався з поживного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до 40°C, в яке вносили відповідний стандарт добової культури тест-мікроба. Попередньо, верхній шар добре перемішували до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом прибирали і в лунки, що утворилися, поміщали препарат, який досліджували з урахуванням його об'єму (0,3 мл).

Об'єм середовища для верхнього шару коливався від 14 до 16 мл. Чашки підсушували 30-40 хв при кімнатній температурі та ставили в термостат на 18-24 год.

При оцінюванні антимікробної активності застосовували такі критерії: відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказували на те, що мікроорганізм не чутливий до препарату; зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказували на малу чутливість культури до препарату; зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінювали як показник чутливості мікроорганізму до препарату; зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчили про високу чутливість мікроорганізму до препарату [8].

Для більш детального дослідження антимікробної активності зразків сировини цинії витонченої для порівняння активності також встановлювали антимікробну активність препарату Хлорофіліпт, який є відомим антибактеріальним засобом.

Результати та обговорення

Результати визначення антимікробної активності сировини цинії витонченої наведено у табл. 1. Як видно з таблиці 1, до екстрактів з трави, листя, квіток та стебел, одержаних 96 % етанолом, значною мірою проявляли чутливість *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та *Escherichia coli*. Крім того, слід зазначити, що зони затримки росту *Bacillus subtilis* під

дією екстракту з квіток були на одному рівні з Хлорофіліптом.

вони відповідали діаметру зон затримки росту, одержаних під впливом Хлорофіліпту.

Щодо екстрактів сировини цинії витонченої, одержаних 70 % етанолом, то найбільші зони затримки росту відмічалися у *Staphylococcus aureus*, при цьому

Таблиця 1. Антимікробна активність зразків сировини цинії витонченої

Сировина, з якої отримані екстракти	Діаметри зон затримки росту в мм ($M \pm m$) ($p \leq 0,05$), $n=3$					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653
Екстрагент – 96 % етанол						
Трава	20, 20, 21	17, 17, 18	15, 15, 16	14, 16, 15	20, 20, 20	13, 14, 14
Листя	20, 21, 20	18, 19, 19	15, 14, 14	16, 15, 14	19, 20, 20	14, 15, 14
Квітки	21, 20, 20	20, 20, 19	15, 15, 15	15, 16, 16	21, 21, 22	12, 13, 13
Стебла	20, 21, 21	18, 18, 19	14, 15, 15	14, 14, 15	19, 20, 20	12, 13, 14
Екстрагент – 70 % етанол						
Трава	20, 19, 20	17, 16, 17	15, 16, 15	16, 15, 16	18, 17, 17	15, 15, 15
Листя	20, 20, 19	17, 18, 18	15, 15, 15	16, 16, 15	18, 18, 17	16, 16, 15
Квітки	21, 20, 21	18, 18, 17	15, 15, 14	15, 14, 15	17, 19, 18	15, 14, 16
Стебла	20, 19, 20	17, 16, 17	14, 15, 16	16, 15, 15	17, 18, 18	16, 14, 16
Екстрагент – 40 % етанол						
Трава	18, 18, 19	14, 14, 15	12, 13, 13	13, 13, 12	17, 18, 17	14, 15, 14
Листя	19, 19, 19	15, 16, 16	13, 13, 14	13, 14, 13	18, 17, 18	14, 13, 14
Квітки	18, 19, 18	16, 15, 15	13, 14, 14	12, 13, 13	18, 18, 17	14, 14, 13
Стебла	18, 19, 19	15, 15, 15	13, 14, 13	14, 12, 13	17, 18, 17	13, 14, 14
Екстрагент – вода						
Трава	12, 12, 13	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
Листя	14, 13, 13	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
Квітки	14, 12, 13	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
Стебла	12, 13, 13	ріст	ріст	ріст	ріст	ріст
Хлорофіліпт розчин спиртовий	20, 19, 20	14, 15, 14	ріст	ріст	22, 21, 21	15, 14, 15

Стосовно активності екстрактів, одержаних 40 % етанолом, то вони поступалися екстрактам, одержаним 70 % та 96 % етанолом, однак також до їх дії були чутливими *Staphylococcus aureus* та *Bacillus subtilis*. Слід відмітити, що зони затримки росту *Bacillus subtilis* були на одному рівні як під дією екстрактів, одержаних 70 % етанолом, так і одержаних 40 % етанолом.

На відміну від Хлорофіліпту до дії екстрактів, одержаних 96 % та 70 % етанолом, також проявляли чутливість *Proteus vulgaris* та *Pseudomonas aeruginosa*.

Щодо екстрактів, одержаних 40 % етанолом, то ці мікроорганізми проявляли малу чутливість.

Водні екстракти сировини цинії витонченої як антимікробні засоби були неефективними. Малу чутливість до їх дії проявив *Staphylococcus aureus*. Усі інші мікроорганізми були не чутливими до водних екстрактів, одержаних з досліджуваних видів сировини цинії витонченої.

Отже, як перспективні лікарські засоби можна розглядати екстракти з трави, листя, квіток та стебел цинії витонченої, які одержані 70 % та 96 % етанолом.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено антимікробну активність етанольних екстрактів трави, листя, квіток та стебел цинії витонченої. На основі проведеного скринінгу визначено найбільш доцільні екстрагенти для отримання лікарських засобів – 70 % та 96 % етанол. Ці дані можуть використовуватися у подальшому при розробці нових вітчизняних лікарських засобів.

Study of antimicrobial activity of *Zinnia elegans* raw materials

Tulub I., Burda N.

Introduction. This work is a logical continuation of the study of raw materials of *Zinnia elegans* Jacq., Asteraceae family, which we started in previous works devoted to phytochemical study. For a comprehensive and in-depth study of this plant, it was appropriate to pay attention to the types of pharmacological activity. From a review of the literature, it is known that representatives of the genus *Zinnia* L. have antimicrobial and antifungal activity. In particular, foreign scientists investigated the antimicrobial properties of ethyl acetate and hexane extracts from *Zinnia peruviana* (L.) L. raw materials. Their pronounced antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Listeria monocytogenes* CLIP 74910, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* was established. Other studies have also been carried out on the study of acetone extracts of leaves, flowers and roots of *Zinnia peruviana*. It was determined that the most effective extract, showing pronounced antimicrobial activity, was the root extract. In addition, studies of ethanolic extracts from the leaves of *Zinnia elegans* in various concentrations were conducted to inhibit the growth of some putrefactive fungi. The results are encouraging, therefore it is urgent to carry out a more detailed study of antimicrobial activity of various types of *Zinnia elegans* raw materials. The aim of the work was to study the antimicrobial activity of the raw material of *Zinnia elegans*. **Materials and methods.** For the experiment, we used herb, leaves, flowers and stems of *Zinnia elegans*, which were harvested in the flowering phase in Ukraine (Kharkiv region) in August 2021-2022. The raw material is a mixture of Karusel and Rozhevyi brilliant varieties. To carry out the experiment, a weight of raw material crushed into powder was placed in a conical flask and an extractant (water and ethanol of different concentrations) was added. The ratio of raw materials: extractant is 1:5. It was insisted for 1 hour at room temperature, then the extracts were filtered and concentrated to thick extracts. In accordance with WHO recommendations, test strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653 were used to evaluate the activity of the drugs. The microbial load was 10⁷ microbial cells per 1 ml of medium and was determined according to the McFarland standard. An 18-24-hour culture of microorganisms was used for work. Muller-

Hinton agar was used for research. The method of drug diffusion in agar was carried out by "wells". When evaluating antimicrobial activity, the following criteria were used: the absence of growth retardation zones of microorganisms around the hole, as well as retardation zones up to 10 mm indicated that the microorganism is not sensitive to the drug; zones of growth retardation with a diameter of 10-15 mm indicated low sensitivity of the culture to the drug; zones of growth retardation with a diameter of 15-25 mm were considered as an indicator of the sensitivity of the microorganism to the drug; zones of growth retardation, the diameter of which exceeded 25 mm, indicated the high sensitivity of the microorganism to the drug. For a more detailed study of the antimicrobial activity of samples of *Zinnia elegans* raw materials, the antimicrobial activity of the drug Chlorophyllipt, which is a well-known antibacterial agent, was also determined to compare the activity. **Research results.** *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Escherichia coli* were largely sensitive to extracts from herb, leaves, flowers, and stems obtained with 96% ethanol. In addition, it should be noted that the growth retardation zones of *Bacillus subtilis* under the influence of flower extract were at the same level as Chlorophyllipt. As for the extracts of *Zinnia elegans* raw material obtained with 70% ethanol, the largest zones of growth retardation were noted in *Staphylococcus aureus*, while they corresponded to the diameter of the growth retardation zones obtained under the influence of Chlorophyllipt. Regarding the activity of the extracts obtained with 40% ethanol, they were inferior to the extracts obtained with 70% and 96% ethanol, but *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* were also sensitive to their action. It should be noted that the growth retardation zones of *Bacillus subtilis* were at the same level both under the influence of extracts obtained with 70% ethanol and those obtained with 40% ethanol. Unlike Chlorophyllipt, *Proteus vulgaris* and *Pseudomonas aeruginosa* were also sensitive to the action of extracts obtained with 96% and 70% ethanol. As for the extracts obtained with 40% ethanol, these microorganisms showed low sensitivity. Aqueous extracts of *Zinnia elegans* raw materials were ineffective as antimicrobial agents. *Staphylococcus aureus* showed little sensitivity to their action. All other microorganisms were not sensitive to aqueous extracts obtained from the studied species of *Zinnia elegans* raw materials. Therefore, extracts from herb, leaves, flowers and stems of *Zinnia elegans*, which are obtained with 70% and 96% ethanol, can be considered promising medicinal products. **Conclusions.** As a result of the conducted research, the antimicrobial activity of ethanolic extracts of herb, leaves, flowers and stems of *Zinnia elegans* was established. On the basis of the screening, the most appropriate extractants for obtaining medicinal products were determined - 70% and 96% ethanol. These data can be used in the future in the development of new domestic medicines.

Keywords: *Zinnia elegans*, raw materials, antimicrobial activity

References

1. Tulub I. O., Burda N. Ye. Study of phenolic compounds in *Zinnia elegans* raw materials by HPLC. *Annals of Mechnikov Institute*. 2022. № 2. P. 88-90. DOI: 10.5281/zenodo.6634904 in Ukrainian
2. Tulub I. O., Burda N. Ye. Fatty acid composition of *Zinnia elegans* raw materials. *Annals of Mechnikov Institute*. 2023. № 1. P. 38-43. in Ukrainian DOI: 10.5281/zenodo.7721922
3. Ana Flavia Burlec, Łukasz Pecio, Cornelia Mircea et al. Chemical Profile and Antioxidant Activity of *Zinnia elegans* Jacq. Fractions. *Molecules*. 2019. Vol. 24(16). 2934. DOI: 10.3390/molecules24162934
4. Gomaa A., Samy M., Desoukey S., Kamel M.. A comprehensive review of phytoconstituents and biological activities of genus *Zinnia*. *Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2018. Corpus ID: 92560705. DOI:10.21608/JABPS.2018.5599.1024
5. Satorres S. E., Chiramello, A. I., Tonn C. E., Laciari A. L. Antibacterial activity of organic extracts from *Zinnia peruviana* (L.) against gram-positive and gram-negative bacteria. *Emir. J. Food Agric*. 2012. Vol. 24 (4). P. 344-347.
6. Mohamed A. M., Cifuentes D. A., Satorres S. E., Mattana C. M.. Biological activity of roots and aerial parts of *Zinnia peruviana* on pathogenic micro-organisms in planktonic state and biofilm forming. *Lett Appl Microbiol*. 2022. Vol. 74(3). P. 419-428. DOI: 10.1111/lam.13622.
7. Jahangir Abdullah Koka, Abdul Hamid Wani, Mohd Yaqub Bhat. Antifungal activities of *Zinnia elegans* and *Plectranthus rugosus* leaves against rot causing fungi. *WJPLS*. 2020. Vol. 6, Issue 5. P. 120-126.
8. Methodical instructions «Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs». Order of the Ministry of Health of Ukraine 05.04.2007, № 167. in Ukrainian