

## ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ ДІЇ ВИЛУЧЕНЬ З ЛЕСПЕДЕЦІ ДВОКОЛІРНОЇ ТА КРЕМУ НА ЇХ ОСНОВІ

Катерина Кисельова<sup>1</sup>, Тетяна Осолодченко<sup>2</sup>,  
Лілія Вишнеvsька<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Національний фармацевтичний університет

<sup>2</sup>Інститут мікробіології та імунології ім. І. І.  
Мечникова

Національної академії медичних наук України

Одним з перспективних засобів боротьби з патогенними мікроорганізмами є використання вилучень з лікарської рослинної сировини, які мають ряд переваг, а саме таких як широкий спектр фармакологічної активності, низьку токсичність, відсутність резистентності до більшості мікроорганізмів, що дозволяє використовувати їх як альтернативу синтетичним АФІ антибактеріальної дії [1–3]. Важливою складовою терапії дерматологічних захворювань також є використання фітопрепаратів, які за рахунок різноманітного хімічного складу поєднують низьку фармакологічних ефектів і насамперед таких як протизапальний, репаративний, антимікробний, протигрибковий, протівірусний і можуть ефективно боротися з низкою дерматологічних захворювань, наприклад вугрова хвороба, піодермія, герпес тощо [1,3–5].

Рослини виду Леспедеца володіють широким спектром фармакологічної активності, яка обумовлена наявністю різних біологічно активних сполук, таких як флавоноїди, фенольні сполуки, фенілпропаноїди, стероїди, лігнани та фенілділактони [6, 7, 8]. В наш час досліджуються такі види як *Lespedeza bicolor*, *Lespedeza homoloba* і *Lespedeza cuneata* та деякі інші. Як сировину для отримання екстрактів та дослідження фармакологічної активності використовується уся наземна частина, стебла, кора, кора кореня, квіти з яких отримують етанольні та метанольні вилучення. Аналіз літературних даних показав зацікавленість науковців в дослідженні фармакологічної активності вилучень леспедеці. Так встановлено, що вилучення леспедеці володіють антиоксидантною, протизапальною, репаративною [5,9–12]. Встановлено, що леспедеца володіє протимікробною активністю, обумовленою наявністю ефірних олій, флавоноїдів і речовин поліфенольної будови [5, 8, 13].

Дослідженнями протигрибкової дії вилучень *Lespedeza cuneata* (екстрагент 80% етанол) на *Candida albicans* показав наявність вираженого протигрибкового ефекту [14]. Виявлена антимікробна активність 70% етанольного екстракту *Lespedeza cuneata* проти основної бактерії-збудника карієсу зубів *Streptococcus mutans* [15]. Встановлено антибактеріальну активність етилацетатної фракції екстрактів *Lespedeza cuneata* на *Plasmodium ovale* [16]. Дослідженнями спиртових екстрактів *L. surtobotrya* показано, що вони пригнічують *Helicobacter pylori* і

модують вироблення цитокінів та виявляють імуномодулювальний ефект [16].

У сукупності отримані результати свідчать про те, що екстракти *Lespedeza* sp. можуть бути потенційним джерелом для створення нових антибактеріальних лікарських засобів.

Мета роботи – мікробіологічне обґрунтування доцільності створення лікарських засобів з вилученнями з леспедеці двоколірної для лікування інфекційних та гнійно-запальних захворювань.

### Матеріали та методи

Досліджено протимікробну активність водного (зразок 1), етанольного (зразок 2) та олійного (зразок 3) вилучень наземної частини леспедеці двоколірної. В дослідженні використовували етанольні тест-культури грампозитивних і грамнегативних бактерій, які належать до різних таксономічних груп: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Протигрибкову дію речовин досліджували на референтному штамі *Candida albicans* ATCC 885-653, а також клінічних ізолятах *Staphylococcus aureus* 16, *Staphylococcus epidermidis* 14, *Streptococcus pneumoniae* 14, *Streptococcus pyogenes* 2432, *Staphylococcus aureus* 124, *Enterococcus faecalis* 42, *Klebsiella pneumoniae* 18, *Enterobacter cloacae* 17, *Acinetobacter baumannii* 150, *Pseudomonas aeruginosa* 18, *Candida albicans* 69.

Приготування мікробної суспензії штамів (мікроорганізмів) проводили з використанням приладу Densi-La-Meter (виробництво PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Мікробну суспензію штамів готували згідно інструкції, яка додається до приладу, та інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 “Стандартизація приготування мікробних суспензій”, м. Київ. Синхронізацію культур штамів проводили з використанням низької температури (4 °C) [18]. Мікробне навантаження складало 10<sup>7</sup> мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. У дослідах використовували 18-24 годинну культуру штамів мікроорганізмів. Для культивування використовували агар Мюллера-Хинтона (Виробництво – Індія «Himedia Laboratories Pvt. Ltd India», термін придатності середовища до XI.2025 р.). Для культивування *Candida albicans* використовували агар Сабуро (Виробництво – Індія, «Himedia Laboratories Pvt. Ltd India» термін придатності середовища до XI.2025 р.).

Визначення антибактеріальних активності досліджуваних зразків проводили методом дифузії в агар (метод «колодязів») на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі [19]. Визначення протимікробної активності досліджуваних зразків проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого в чашки Петрі (діаметром 100 мм і висотою 15 мм). У нижньому шарі використовували «голодне» незасіяне середовище

(агар-агар, вода, солі). Цей шар являє собою підкладку з середовища об'ємом  $(10,0 \pm 0,3)$  мл, на яку строго горизонтально встановлюють 6 тонкостінних циліндрів з нержавіючої сталі діаметром 8 мм і висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливають верхній шар, що складається з поживного агаризованого середовища, розплавленого та охолодженого до температури  $(40,0 \pm 0,5)$  °С, в яке вносили відповідний стандарт добової тест-культури мікроорганізма. Попередньо верхній шар добре перемішувався до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри стерильним пінцетом витягували і в лунки, що утворилися, поміщали досліджувану речовину в об'ємі  $0,3$  мл. Обсяг середовища для верхнього шару складав  $(15,0 \pm 0,5)$  мл. Чашки підсушували 30 – 40 хвилин при кімнатній температурі і ставили в термостат на 18 – 24 години. Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів заміряли за допомогою мірної лінійки з точністю вимірювання  $1,0$  мм.

При оцінці антибактеріальної активності досліджуваних зразків 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 чутливості мікроорганізму до концентрації випробовуваної речовини;

- зони затримки росту, діаметр яких перевищує  $25$  мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до випробовуваної концентрації антимікробної речовини.

Також використовували метод дисків. На засіяну відповідним мікроорганізмом поверхню агару накладали диски діаметром  $3$  мм передчасно змоченим у розчині вилучень з ЛРС або накладали невелику кількість МЛЗ. При оцінці антибактеріальної активності досліджуваних зразків застосовували такі критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо диска, вказує на те, що мікроорганізм не чутливий до препарату або концентрації антимікробної речовини;

- зони затримки росту діаметром  $5$  –  $8$  мм вказують на малу чутливість культури до випробовуваної концентрації антимікробної речовини;

- зони затримки росту діаметром  $9$  –  $14$  мм розцінюються, як показник чутливості мікроорганізму до концентрації випробовуваної речовини;

- зони затримки росту, діаметр яких перевищує  $15$  мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до випробовуваної концентрації антимікробної речовини.

В якості контрольного препарату при обґрунтуванні введення до складу кремів вилучень з леспедеці біколірної в складі крему використовували референтний препарат «Календули мазь»,

виробництва ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика», м. Житомир, серія 10623.

## Результати та обговорення

Результати дослідження антимікробних властивостей вилучень наземної частини леспедеці двоколірної наведені в таблиці 1.

За результатами досліджень встановлено, що більш високою антибактеріальною активністю володіють водні вилучення наземної частини леспедеці біколірної. Зразок показав чутливість по відношенню до еталонних тест-культур *S. aureus* ATCC6538-P та *S. ATCC 6538-P*, *Escherichia coli* ATCC 25922 і *Bacillus subtilis* ATCC 6633 при визначенні методом колодців. А також низьку активність по відношенню до усіх інших досліджуваних тест-зразків, а також клінічних ізолятів, за виключенням *Acinetobacter baunani 150* та *Pseudomonas aeruginosa 18*. Результати мікробіологічних досліджень показали помірну чутливість вилучень наземної частини Леспедеці двоколірної (*Lespedeza bicolor*) до тест-штамів *S. aureus* ATCC6538-P та *S. ATCC 6538-P* (діаметри зон затримки росту в середньому  $17,0$ ,  $15,0$  та  $15,0$  мм для водного, етанольного та олійного відповідно). До клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus 16* і *Staphylococcus epidermidis 14* екстракти виявляють нижчу чутливість.

Встановлено, що більш низькою активністю володіє олійний екстракт, що обумовлено його низькою дифузиею в гідрофільне живильне середовище. Однак при дослідженні методом дисків спостерігається незначна чутливість (діаметр зон затримки росту був в діапазоні від  $6$  до  $10$  мм) для тих зразків, які не показали чутливості при дослідженні методом колодців. Це еталонні тест-культури *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885-653 та клінічні ізоляти *Staphylococcus aureus 16*, *Staphylococcus epidermidis 14*, *Streptococcus pneumoniae 14*, *Streptococcus pyogenes 2432*, *Staphylococcus aureus 124*, *Enterococcus faecalis 42*, *Klebsiella pneumoniae 18*, *Enterobacter cloacae 17*. Експериментально визначено, що олійний екстракт не виявляє антимікробної активності до клінічних ізолятів *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Acinetobacter baunani 150*, *Pseudomonas aeruginosa 18* і *Candida albicans 69* при дослідженні обома методами. Клінічний ізолят *Acinetobacter baunani 150* виявився нечутливими до олійного і етанольного екстрактів, а *Pseudomonas aeruginosa 18* взагалі до усіх експериментальних зразків.

З огляду на отримані результати і наявність вираженої чутливості щодо тест-штамів мікроорганізмів *Staphylococcus* нами розроблено склад дерматологічного засобу – крему на емульсійній основі, який містив олійний і спиртовий екстракт Леспедеці двоколірної. Стафілококи найчастіше викликають гнійно-запальні захворювання, які локалізуються у шкірі, підшкірній основі, слизових

оболонках, лімфатичних шляхах, кістках тощо. Вони викликають фурункул — гнійне запалення волосяного мішечка та сальної залози; карбункул — гнійне

запалення глибоких шарів шкіри та підшкірної основи; фолікуліт — гнійне запалення волосяних мішечків і піодермію — гнійне запалення шкіри.

**Таблиця 1. Протимікробна активність вилучень леспедеці двоколірної відносно референтних штамів мікроорганізмів, n=3**

Мікроорганізми	Метод	Діаметри зон затримки росту в мм до зразків		
		Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Колодязь	17,0±1,0	16,0±1,0	15,0±1,0
	Диски	15,0±1,0	12,0±1,0	14,0±1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	Колодязь	17,0±1,0	15,0±1,0	16,0±1,0
	Диски	13,0±1,0	13,0±1,0	11,0±1,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Колодязь	16,0±1,0	14,0±1,0	ріст
	Диски	12,0±1,0	11,0±1,0	10,0±1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Колодязь	13,0±1,0	12,0±1,0	ріст
	Диски	12,0±1,0	10,0±1,0	6,0±1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Колодязь	14,0±1,0	12,0±1,0	ріст
	Диски	12,0±1,0	9,0±1,0	9,0±1,0
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	Колодязь	13,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	11,0±1,0	9,0±1,0	ріст
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Колодязь	17,0±1,0	15,0±1,0	13,0±1,0
	Диски	14,0±1,0	12,0±1,0	12,0±1,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	Колодязь	13,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	11,0±1,0	11,0±1,0	10,0±1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 16	Колодязь	14,0±1,0	13,0±1,0	ріст
	Диски	10,0±1,0	9,0±1,0	9,0±1,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 14	Колодязь	17,0±1,0	14,0±1,0	ріст
	Диски	13,0±1,0	11,0±1,0	9,0±1,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 14	Колодязь	14,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	11,0±1,0	10,0±1,0	8,0±1,0
<i>Streptococcus pyogenes</i> 2432	Колодязь	14,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	10,0±1,0	9,0±1,0	9,0±1,0
<i>Staphylococcus aureus</i> 124	Колодязь	15,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	11,0±1,0	8,0±1,0	7,0±1,0
<i>Enterococcus faecalis</i> 42	Колодязь	15,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	11,0±1,0	10,0±1,0	7,0±1,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 18	Колодязь	14,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	10,0±1,0	9,0±1,0	7,0±1,0
<i>Enterobacter cloacae</i> 17	Колодязь	14,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	10,0±1,0	8,0±1,0	8,0±1,0
<i>Acinetobacter baumani</i> 150	Колодязь	ріст	ріст	ріст
	Диски	9,0±1,0	ріст	ріст
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 18	Колодязь	ріст	ріст	ріст
	Диски	ріст	ріст	ріст
<i>Candida albicans</i> 69	Колодязь	13,0±1,0	ріст	ріст
	Диски	9,0±1,0	03±1,0	ріст

Окрім того науковці підтвердили, що вилучення леспедеці також володіють антиоксидантною, протизапальною і репаративною активністю, які підтверджують перспективи її використання в дерматології [9–11]. Результати дослідження антимікробних властивостей крему з екстрактами леспедеці двоколірної, по відношенню до штамів мікроорганізмів, які можуть спровокувати інфекційно-запальні процеси шкіри, наведені в таблиці 2. Зразок крему показав чутливість до тест-штаму S.

*Aureus* ATCC 25923. До тест-штамів мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P і *Candida albicans* ATCC 885-653 та до клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* 16 *Staphylococcus epidermidis* 14 активність виявилась слабкою. По відношенню до клінічних ізолятів *Streptococcus pneumoniae* 14, *Streptococcus pyogenes* 2432 і *Staphylococcus aureus* 124 дослідний зразок не проявив активності при дослідженні методом колодязів.

**Таблиця 2. Протимікробна активність крему з вилученнями леспедеці двоколірної відносно референтних штамів мікроорганізмів, n=3**

Мікроорганізми	Метод	Діаметри зон затримки росту в мм до зразків	
		Дослідний зразок	Календула мазь
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Колодязь	18,0±1,0	16,0±1,0
	Диски	15,0±1,0	12,0±1,0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Колодязь	14,0±1,0	14,0±1,0
	Диски	10,0±1,0	11,0±1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Колодязь	12,0±1,0	ріст
	Диски	9,0±1,0	ріст
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	Колодязь	13,0±1,0	ріст
	Диски	10,0±1,0	ріст
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Колодязь	14,0±1,0	17,0±1,0
	Диски	14,0±1,0	13,0±1,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	Колодязь	14,0±1,0	ріст
	Диски	11,0±1,0	ріст
<i>Staphylococcus aureus</i> 16	Колодязь	14,0±1,0	13,0±1,0
	Диски	12,0±1,0	11,0±1,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 14	Колодязь	14,0±1,0	15,0±1,0
	Диски	11,0±1,0	11,0±1,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 14	Колодязь	ріст	ріст
	Диски	14,0±1,0	ріст
<i>Streptococcus pyogenes</i> 2432	Колодязь	ріст	ріст
	Диски	10,0±1,0	ріст
<i>Staphylococcus aureus</i> 124	Колодязь	ріст	13,0±1,0
	Диски	8,0±1,0	9,0±1,0
<i>Candida albicans</i> 69	Колодязь	ріст	ріст
	Диски	ріст	ріст

Однак при використанні в дослідженнях методу дисків зразок продемонстрував чутливість до *Streptococcus pneumoniae* 14 і *Streptococcus pyogenes* 2432; малу чутливість до *Staphylococcus aureus* 124 та відсутність чутливості до *Candida albicans* 69. За рівнем активності він перевищує активність референтного препарату по відношенню до більшості мікроорганізмів. Для низки мікроорганізмів активність знаходиться на рівні активності препарату порівняння, так як отримані дані знаходяться в межах статистичної похибки.

#### Висновки

1. Встановлено, що вилучення наземної частини леспедеці двоколірної здійснювали помірний протимікробний ефект переважно на грампозитивні мікроорганізми та грамнегативні мікроорганізми.
2. Найвищий протимікробний ефект виявляло водне вилучення стосовно референтних штамів мікроорганізмів і клінічних ізолятів.
3. Наявність вираженої чутливості відносно тест-штамів мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* обумовила актуальність розробки крему з олійним і спиртовим вилученням леспедеці двоколірної.
4. Експериментально встановлена наявність вираженої антимікробної дії крему відносно тест-штаму *S. aureus* ATCC 25923 та слабкої антибактеріальної дії до тест-штамів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P і *Candida albicans* ATCC 885-653 та до клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* 16 *Staphylococcus epidermidis* 14,

*Streptococcus pneumoniae* 14, *Streptococcus pyogenes* 2432 і *Staphylococcus aureus* 124 яка перевищує, або знаходиться на рівні активності референтного препарату мазі календули.

#### Study of the antibacterial effect of extracts from *Lespedeza bicolor* and cream based on them Kateryna Kyselova, Tetyana Osolodchenko, Lillia Vyshnevskaya

**Aim of work.** The aim of the work is the microbiological substantiation of the creation of medicinal products with extracts from *Lespedeza bicolor* for the treatment of infectious and purulent-inflammatory diseases. **Materials and methods.** The antimicrobial activity of water, alcohol, and oil extraction of the ground part of *Lespedeza bicolor*, as well as cream with oil and alcohol extraction of *Lespedeza bicolor* compared to the reference drug Calendula ointment was studied. Reference test cultures of microorganisms belonging to different taxonomic groups, as well as clinical isolates, were used for microbiological examination of the samples. The antimicrobial activity of the studied samples was determined by the diffusion method of «wells» and disks with the measurement of the diameters of the growth retardation zones of microorganisms. **Results and discussion.** It was established that the extraction of the ground part of *Lespedeza bicolor* has a moderate antimicrobial effect against selected strains of microorganisms. The results showed that relative to the reference strains of microorganisms and clinical isolates,

the highest antimicrobial effect is shown by the aqueous extraction of lespedeza. The presence of pronounced sensitivity of test strains of Staphylococcus microorganisms to Lespedeza extractions determined the urgency of developing a cream with oil and alcohol extraction of Lespedeza bicolor. Moderate antimicrobial action of the cream against the test strain S.aureus ATCC 25923 and weak antibacterial action against the test strains Staphylococcus aureus ATCC 6538-P and Candida albicans ATCC 885-653 and clinical isolates of Staphylococcus aureus 16, Staphylococcus epidermidis 14, Streptococcus pneumoniae 14, Streptococcus pyogenes 2432 and Staphylococcus aureus 124 was experimentally established, which exceeds or is at the level of activity of the reference drug «Calendula ointment». **Conclusions.** Microbiological studies have established the presence of antibacterial activity of extracts of the Lespedeza bicolor ground part in relation to gram-positive and gram-negative reference strains of microorganisms and clinical isolates. It is shown that the cream with oil and alcohol extraction of Lespedeza in terms of antimicrobial activity exceeds or is at the level of activity of the reference drug «Calendula Ointment».

**Keywords:** Lespedeza bicolor, microorganisms, antibacterial activity, cream, dermatology.

#### References

1. Modern phytotherapy: teaching manual Garna, S. V. et al. Kharkiv: Madrid Printing House. 2016. 580
2. Zazharskyi, V. V., Davydenko, P. O., Kulishenko, O. M. et al.. Antimicrobial activity of 50 plant extracts *Biosystems Diversity*. 2019. 27(2), 163-169. DOI: <https://doi.org/10.15421/011922>
3. Chekman, I. S. Clinical phytotherapy. Kyiv: A.S.K. Publishing House. 2013. 552.
4. Yazarlu, O., Iranshahi, M., Kashani, H.R.K. et al. Perspective on the application of medicinal plants and natural products in wound healing: A mechanistic review. *Pharmacol Res*. 2021. 174, 105841. doi: 10.1016/j.phrs.105841.
5. Ahuja, A., Gupta, J., Gupta, R. Miracles of Herbal Phytomedicines in Treatment of Skin Disorders: Natural Healthcare Perspective. *Infect Disord Drug Targets*. 2021. 21(3), 328-338. doi: 10.2174/1871526520666200622142710.
6. Lysyuk, R.M., Darmogray, R.E. Plants of the genus Lespedeza as promising sources of modern medicines. *Phytotherapy*. 2015. 2. 31-35.
7. Yuan, G., Guan, Y., Yi, H. et al. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Scientific Reports*. 2021. 11. 10471. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90035-7>.
8. Deng, F., Chang, J., Zhang, J.S. New flavonoids and other constituents from Lespedeza cuneata. *J Asian Nat Prod Res*. 2007. 9. 655-658. doi: 10.1080/10286020600979894.
9. Kim, S.J., Kim, D.W. Antioxidative activity of hot water and ethanol extracts of Lespedeza cuneata seeds. *Korean J Food Preserv*. 2007. 14. 332-335.
10. Thuy, N.T.T., Lee, J.E., Yoo, H.M. et al. Antiproliferative Pterocarpan and Coumestans from Lespedeza bicolor. *J. Nat. Prod*. 2019. 82 (11). 3025-3032. doi: 10.1021/acs.jnatprod.9b00567.
11. Lee, S.J., Hossaine, M.D., Park, S.C. A potential anti-inflammation activity and depigmentation effect of Lespedeza bicolor extract and its fractions. *Saudi J Biol Sci*. 2016. (23) 1. P. 9-14. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.01.016
12. Kim, Y.R., Nam, S.H. Effects of a mouthwash containing Lespedeza cuneata extract on risk of dental caries: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Sci. Rep*. 2022. 12(1). 20761. doi: 10.1038/s41598-022-25162-w.
13. Woo, H.S., Kim, D.W., Curtis-Long M.J., et al. Potent inhibition of bacterial neuraminidase activity by pterocarpan isolated from the roots of Lespedeza bicolor. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011. 21(20). 6100-6103. doi: 10.1016/j.bmcl.2011.08.046.
14. Hong, Hee-Jin, Son, Na-Ra, Yang, Wang-Yong et al. Antibacterial and antifungal activities of Lespedeza cuneata extract against Candida albicans. *Biomedical Research*. 2018. 29 (20). DOI: 10.4066/biomedicalresearch.29-18-1080.
15. Nam, S.H. Evaluation of the anti-carries effect of Lespedeza cuneata extract against Streptococcus mutans. *Georgian Med News*. 2023. 3(38). 19-22.
16. Lee, Hye-Jin, Lim, Gyu-Nam, Park, Min-A, et al. Antibacterial and Antioxidative Activity of Lespedeza cuneata G. Don Extracts. *Microbiol. Biotechnol. Lett*. 2011. 39(1), 63-69
17. Yang, J.K., Yeo, H.D., Baik, S.C. et al. Antibacterial and immuno-modulatory activity of ethanol extracts from Lespedeza sp. during Helicobacter pylori infections. *Biotechnol Bioproc*. 2010. 15. 1077-1083. <https://doi.org/10.1007/s12257-009-3115-z>
18. Volyanskiy, Y. L., Mironenko L. G., Kalinichenko S. V. et al. Standardization of the preparation of microbial suspensions: Newsletter of innovations in health care. N 163-2006. Ministry of Health Care of Ukraine. 2006. K. Ukrmedpatentinform. P. 10.
19. Volyanskiy, Y. L., Gritsenko, I. S., Shyrokobokov, V. P. et al. The study of the specific activity of antimicrobial drugs: a method. recommendations / K. :StEntScPhC Ministry of Helthcareof Ukraine.2004. 38.