

Винахід належить до сільського господарства, медицини, ветеринарії, зооінженерії, може бути використаний для профілактики та захисту кормів і продуктів харчування від пошкодження їх бактеріальною флорою, токсичними плісневими грибами і дріжджами - збудниками бактеріозів, мікозів та мікотоксикозів.

Відомий спосіб приготування антибактеріального препарату на основі оману (*Inula* sp.), який включає настоювання висушеної подрібненої сировини (надземної частини, коренів та кореневищ) оману клейкого (*Inula viscosa*) в дистильованій воді або етиловому спирті з подальшим фільтруванням і випарюванням з допомогою ротаційного випарювача, причому готовий препарат підлягає зберіганню у щільно закритих скляних пляшках у морозильній камері при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$  (Ali-Shtayeh M.S., Yaghmour R.M-r., Faidi Y.R., Salem K., Al-Nuri M.A. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. Journal of Ethnopharmacology. 1998, 60, p.265-271).

Недоліком відомого способу є недостатня антибіотична активність одержаного препарату по відношенню до ряду мікроорганізмів і його практична непридатність для реалізації в Україні, оскільки *Inula viscosa* є ендемічною рослиною, яка поширена лише на Близькому Сході і не зустрічається в середніх широтах.

В основу запропонованого винаходу покладено завдання удосконалення способу приготування антимікробного препарату, в якому за рахунок настоювання висушеної подрібненої сировини оману високого (*Inula helenium*) в ацетоні або суміші ацетону з метиловим спиртом забезпечується підвищення фунгістатичної та антибактеріальної активності препарату по відношенню до мікроміцетів, золотистого стафілокока, ентеробактерій та аеробної спорової мікрофлори і можливість одержання його в Україні на основі вітчизняної рослинної сировини.

Поставлене винаходом завдання досягається тим, що у способі приготування антимікробного препарату який включає оброблення висушених подрібнених частин рослин з роду оман (*Inula* sp.) хімічними екстрагентами, настоювання, фільтрування і випаровування у вакуумі з допомогою ротаційного випарювача, згідно винаходу для екстрагування використовують кореневища і корені оману високого (*Inula helenium*), а в якості екстрагентів застосовують ацетон або суміш ацетону з метиловим спиртом з розрахунку 100-150мл екстрагента на 100г рослинної сировини.

Приклад. Висушені кореневища і корені оману високого (*Inula helenium*) подрібнювали, заливали ацетоном або сумішшю ацетону з метиловим спиртом у співвідношенні 2:1 з розрахунку 100-200мл екстрагента на 100мл рослинної сировини, настоювали на протязі тижня у щільно закритих пляшках з темного скла при періодичному струшуванні і фільтрували крізь стерильний паперовий фільтр. Антибіотичну активність екстрактів перевіряли методом паперових дисків [Методи експериментальної мікології. Справочник. /Под ред. В.И.Билай. - К.: Наукова думка, 1982. - 550с. ], кожний диск діаметром 6 мм насичували одержаним екстрактом. Оброблені диски розміщували в чашки Петрі на інокульовані агаризовані, оптимальні для росту тест - середовища:

МПА - для культивування бактерій, сусло-агар - для гіфальних та дріжджеподібних грибів, середовище Сабуро - для дріжджової мікрофлори, середовище Чапека - для гіфальних мікроміцетів. Посіви інкубували при температурі  $37^{\circ}\text{C}$  на протязі 24 годин для бактерій і дріжджів і 72-го дини ( $T=28^{\circ}\text{C}$ ) для міцеліальних грибів. За контроль правили тест-культури з паперовими дисками, змоченими відповідними екстрагентами. Через зазначені вище проміжки часу визначали діаметр зон пригнічення росту бактерій, дріжджів та грибів.

Дослідження на виявлення антибіотичної активності екстрактів коренів оману високого по відношенню культур патогенних бактерій та дріжджів *Candida albicans* показало, що ацетоновий та ацетоново-метиловий екстракти, виготовлені з розрахунку 100-150мл екстрагента на 100г рослинної сировини, істотно перевершували відомий препарат за рівнем антибіотичної активності відносно до золотистого стафілокока і виявили найвищу антикандидозну дію (табл.1). Крім того, запропонований препарат, на відміну від відомого, характеризувався антибіотичною активністю проти бактерії *Pseudomonas azireginosa* - збудника вторинних інфекцій у людини і тварини, ентериту в новонароджених, небезпечних захворювань домашньої птиці і хвороб ряду рослин, насамперед тютюну і салату.

Дані, наведені в табл.1, свідчать що порівняно найсильнішу антибактеріальну і антикандидозну дію відмічали у ацетонового та ацетоново-метилового екстрактів коренів оману високого, узятих з розрахунку 100г на 100-150мл екстрагента. Подальше підвищення концентрації екстракту виявилось недоцільним через різке зменшення виходу готового препарату. У той же час випаровування відфільтрованого екстракту у вакуумі з допомогою ротаційного випарювача веде до збільшення препарату від залишків хімічних екстрагентів і подальшого його концентрування без найменшої втрати антибіотичних властивостей. Екстракти, одержані при витраті 100г рослинної сировини на 200мл екстрагента, а також при екстрагуванні коренів оману високого метиловим спиртом, за рівнем антибактеріальної і антикандидозної активності практично не перевершували відомий препарат з сировини оману високого, що застосовується в медицині.

Випробування ацетоново-метилового екстракту коренів оману високою на бактеріях, дріжджах і грибах (збудниках кишкових інфекцій, кандідомікозів та аспергиле-, пеніцило-, фузаріотоксикозів) показало, що запропонований препарат характеризується вираженою антибіотичною дією по відношенню до ряду мікроорганізмів (табл.2), виявив високу антибіотичну активність до кокової мікрофлори (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*) бактерій кишкової групи-збудників ентеробактеріозів з проявами діареї (*E. Coli*, *Salmonella* sp. *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aureginosa*) мікобактерій, деяких спороутворюючих бактерій з роду *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. cerevis*), фітопатогенних бактерій (*Corynebacterium michiganense*), та міцеліальних грибів *Penicillium* sp. і *Chaetomium comatum*. Препарат проявив також істотну антикандидозну, антиаспергільозну і антифузаріозну активність та помітно пригнічував ріст *Geotrichum candidum* - збудника геотрихозів людини і сільськогосподарських рослин, особливо плодів цитрусових і томатів.

Промислова придатність винаходу випливає з того, що запропонований спосіб одержання антимікробного препарату є недорогим, нескладним і цілком придатним для реалізації в Україні з використанням вітчизняної сировини, оскільки корені оману високого у широких масштабах заготовляються для медичних потреб, а одержуваний препарат має досить широкий спектр антимікробної дії, виявляє значну антибіотичну активність по відношенню до збудників особливо небезпечних інфекційних хвороб людини, тварини і сільськогосподарських рослин бактеріальної, грибної етіології та мікотоксикозів.

Може зберігатися у щільно закритих пляшках з темного скла при кімнатній температурі на протязі року, не втрачаючи своїх антибіотичних властивостей.

Таблиця 1

Антимікробна активність екстрактів оману в залежності від способу приготування

Препарат	Діаметр зони пригнічення росту, мм.				
	Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Pseudomonas aeruginosa	Proteus vulgaris	Candida albicans
Ацетоново-метиловий екстракт Inula gelenium (запропонований спосіб)					
200мл\100г	13,3	6,0	10,3	10,0	7,3
150мл\100г	16,0	6,0	16,0	10,0	10,0
100мл\100г	20,3	6,0	19,7	11,3	13,7
Ацетоновий екстракт Inula gelenium (запропонований спосіб)					
200мл\100г	12,0	6,0	9,3	8,0	10,0
150мл\100г	15,3	6,0	17,0	9,7	14,3
100мл\100г	18,0	6,0	21,0	12,7	13,0
Метиловий екстракт Inula gelenium					
200мл\100г	6,0	6,0	7,0	8,3	8,7
150мл\100г	6,0	6,0	8,3	8,0	10,0
100мл\100г	6,0	6,0	9,0	9,0	11,3
Ацетон+метиловий спирт (контроль)	6,0	6,0	6,0	10,0	6,0
Ацетон (контроль)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Метиловий спирт(контроль)	6,0	6,0	6,0	8,3	6,0
Водний екстракт Inula viscosa (відомий спосіб)					
Спиртовий настій Inula viscosa (відомий спосіб)	10,0	6,0	6,0	9,3	12,6
	14,9	6,0	6,0	16,6	6,0

Таблиця 2

Антимікробна активність ацетоново-метилового екстракту оману високого

Тест-культури	Діаметр зони пригнічення росту, мм	
	Ацетоново- метиловий екстракт (запропонований спосіб)	Ацетон + метиловий спирт(контроль)
Staphylococcus aureus	16,0	6,0
Micrococcus luteus	46,0	10,0
Escherichia coli	6,0	6,0
Salmonella sp.	14,3	6,0
Proteus vulgaris	10,0	10,0
Pseudomonas aeruginosa	16,0	6,0
Serratia marcescens	6,0	6,0
Mycobacterium B 5	46,3	10,0
Bacillus subtilis	6,0	6,0
Bacillus megaterium	6,7	12,0
Bacillus mycoides	36,3	6,0
Bacillus cereus	46,7	6,0
Corynebacterium michiganense	26,3	6,0
Candida albicans	10,0	6,0
Candida tropicalis	12,3	9,7
Candida pseudotropicalis	6,0	6,0
Saccharomyces cerevisiae	12,0	12,0
Geotrichum candidum	18,3	6,0

Aspergillus flavus	14,7	6,0
Aspergillus fumigatus	16,3	10,0
Aspergillus niger	16,0	9,7
Penicillium crustosum	22,0	6,0
Penicillium cyclopium	47,0	12,3
Fusarium oxysporum	10,0	6,0
Chaetomium comatum	48,0	6,0