

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. SHOOTS

*Ivan Franko National University of Lviv (Lviv, Ukraine)

**Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv, Ukraine)

vorobetsnatalia@gmail.com

The article highlights the results of studies of the antibacterial activity of extracts of the shoots of the introduced high-growing blueberry species *Vaccinium corymbosum* L. of the Bluejay variety against gram-positive and gram-negative bacteria. The Bluejay variety belongs to the group of early ripeners. Since the content of biologically active compounds can change in different phases of physiological development, plant material was selected at four stages of development: flowering, fruiting, autumn after fruiting, and preparation for winter dormancy. Extracts with aqueous ethanol of different concentrations were prepared by the maceration method, and aqueous extracts by suspension in a reflux water bath according to the State Pharmacopoeia of Ukraine. It was found that the sensitivity of water and water-ethanol extracts of *V. corymbosum* depends on the stage of development at which the plant material was selected and on the extractant. Furthermore, the sensitivity of both gram-positive and gram-negative bacteria to water and water-ethanol extracts was higher than that shown by us to most of the used commercial drugs.

Thus, based on the results of the research, the shoots of tall blueberry can be considered promising for further study in the manufacture of dosage forms with antibacterial properties against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* and *Micrococcus luteus*

Key words: *Vaccinium corymbosum* variety Bluejay, antibacterial activity.

Connection of the publication with planned research works. The research was carried out within the framework of the scientific topic «Synthesis and transformation of new physiologically active substances – derivatives of uncondensed and condensed sulfur- and nitrogen-containing heterocycles and related heterocyclic systems, using methods of in silico modeling, a study of physicochemical properties and pharmacological screening of the obtained compounds, research of various types of wild and cultivated plants of the western region of Ukraine to obtain new medicinal products, developing the technology of medicinal products of new compositions and working out modern methods of pharmaceutical and toxicological analysis». State registration number 0121U107504.

Introduction. Medicinal plants (MP) are traditionally used to treat various ailments, including gastrointestinal, skin, liver, cardiovascular and oncological, respiratory, and urinary problems. These plants synthesize a diverse array of bioactive compounds (BAC) that are essential for human and animal survival and flourishing in the natural environment, including protective functions against abiotic stresses caused by changes in climate, water and air quality, mineral nutrient supply, and biotic – living factors, including viruses. The composition of BAC of medicinal plants varies depending on the plant species, soil type, and growing conditions. BAC are components not only of MP but also of those species that are typical food for humans and animals. These biologically active secondary metabolites synthesized by medicinal plants can also strongly influence the physiological functions of mammals that consume them. It is especially true of BACs, which have antioxidant properties. Although many MPs have been well studied for their phytochemical composition and pharmacological properties, those species introduced in new regions and/or those of their organs that have not been traditionally used until now remain poorly studied. One of these objects is the high-growing blueberry – *Vaccinium corymbosum* L., which is a typical North American species introduced in many regions of the planet with favorable climatic conditions

for growth. For over a hundred years, numerous varieties of *V. corymbosum* have been created, which differ in fruit ripening. The chemical composition of the fruits of *V. corymbosum* and their effect on the body of mammals have been studied the most, with regard to other bodies of scientific information much less. In previous studies, we found a high content of BAC in high-growing blueberry shoots with antioxidant activity [1-5].

This work aimed to determine the antimicrobial activity of *V. sorymbosum* shoot extracts.

Object and research methods. Shoots of *V. corymbosum* L. (Bluejay variety) were collected at 4 stages of plant development: I – flowering, II – fruiting, III – in autumn after fruiting, IV – preparation for winter dormancy. The dried shoots were homogenized, and the resulting powders were collected, passed through a sieve with a diameter of 2 mm, and used for extraction. The aqueous extract was obtained by suspending 2 g of the material in 20 ml of distilled water under reflux in a boiling water bath for 30 minutes. Aqueous ethanol of various concentrations (20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 96%) was also used to prepare the extracts. Extracts were prepared by the maceration method following the State Pharmacopoeia of Ukraine (1:10 / weight: volume /g: ml, 14 days in the dark at 25°C). After the extraction process, each extract was filtered through Whatman № 1 filter paper, and the resulting solutions were tested for antibacterial activity.

Antibacterial activity was determined using microorganisms obtained from the culture collections of the Ivan Franko National University of Lviv Department of Microbiology. Cultures taken for research: *Escherichia coli* B-4-E, *Bacillus subtilis* B-10-V, *Staphylococcus albus* B-16-St, *Pseudomonas fluorescens* B-20-Ps, *Proteus vulgaris* B-26-Pr and *Micrococcus luteus* B-29-M. The method of diffusion in agar in modifications of wells or cylinders was used [6, 7]. Petri dishes were filled with up to 20 ml of sterile Nutrient agar medium with a temperature of up to +50°C. After solidification of the dense nutrient medium, 0.2 ml of a suspension of microorganisms was dropped onto its surface and

Table 1 – Antibacterial activity of control samples

Samples	Diameter of growth retardation zone, mm					
	Gram-negative bacteria			Gram-positive bacteria		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus albus</i>
Rotokan	10,00±0,000	10,67±4,509	17,00±4,359	13,00±2,646	10,33±0,577	13,00±2,646
Chlorophyllipt	11,67±0,577	9,67±0,577	11,67±0,577	14,67±0,577	14,67±0,577	9,67±0,577
Eucalyptus tincture	12,00±1,000	12,67±1,155	14,67±0,577	13,33±1,155	13,33±0,577	11,67±0,577
Dekasan	12,33±0,577	10,67±0,577	10,67±0,577	10,67±0,577	9,33±0,577	10,67±0,577
Cypronex, 0.3%	50,00±0,000	50,00±0,000	30,00±0,000	50,00±0,000	50,00±0,000	50,00±0,000
20% AE	6,67±0,577	6,33±0,577	6,33±0,577	6,33±0,577	6,67±0,577	6,33±0,577
30% AE	6,33±0,577	6,00±0,000	6,67±1,155	7,33±0,577	5,67±0,577	5,67±0,577
40% AE	6,00±1,00	6,00±1,000	6,33±0,577	6,33±0,577	6,67±1,528	6,00±1,000
50% AE	6,67±0,577	6,33±0,577	6,67±0,577	6,67±0,577	6,67±0,577	6,67±0,577
60% AE	6,67±0,577	6,00±0,000	6,33±0,577	6,67±0,577	6,00±0,000	6,67±0,577
70% AE	7,00±1,000	5,67±0,577	6,67±0,577	7,00±1,00	6,00±1,000	6,33±0,577
80% AE	6,33±0,577	6,33±0,577	6,33±0,577	6,67±1,528	5,67±0,577	5,67±0,577

rubbed with a Dryhalsky spatula to obtain continuous growth ("lawn"). Suspensions were prepared in separate test tubes in sterile distilled water from one- or two-day cultures of bacteria. The concentration of microorganisms in the suspension was determined on a photoelectrocolorimeter at the appropriate wavelengths in a cuvette with an optical path of 3 mm, using biomass from 0.1 to 0.5 mg/ml for seeding. After 20–30 min, glass cylinders with a diameter of 5 mm (4–5 pcs.) were installed on the surface of the seeded medium, or holes with a diameter of 6 mm (4–5 pcs.) were made with a flamed stamp. Then, a test sample of water or ethanol extract from plants in the amount of 0.2 ml was introduced into the wells or cylinders. Controls were added in the exact quantities (0.2 ml of ethanol of the appropriate concentration; solutions were prepared using sterile distilled water), 1 drop of Cipronex (active substance: ciprofloxacin 3 mg/ml (0.3% pharmacy solution), Fluconazole 150 mg (dissolved 1 capsule in 9 ml of sterile water until a homogeneous suspension is obtained, then 0.2 ml was dripped with a pipette), the antiseptic drug Dekasan (Solution of digimetoxin dihydrochloride 0.02% by weight in water with sodium chloride, LLC «Yuria-Pharm»), Eucalyptus tincture (Tinctura Eucalypti), Ternofarm LLC, Ternopil) and Chlorophyllipt (extractum chlorophyllipti spissum). All experiments were performed at least three times. The seeded Petri dishes were incubated in a thermostat at +28±2 C for 24 hours. The diameter of the growth retardation zones of the test cultures was measured in mm after one or two days, including the diameter of the hole or cylinder. The following scale was used to determine the antimicrobial activity of the studied samples: the diameter of the growth retardation zone is more than 20 mm – highly sensitive; 10-20 mm – sensitive; up to 10 mm – moderately sensitive. Values in the range of 6 to 8 mm were considered inactive against microorganisms. When the strain showed no activity, the indicated value was equal to zero.

Statistical processing of the results was carried out using the Microsoft Excel program. The Student's t-test determined the reliability of changes. Differences with a significance level of at least 95% (p<0.05) were considered reliable.

Research results and their discussion.

Antibacterial activity of control samples. Aqueous ethanol in a concentration of 20-80% turned out to be inactive against all tested strains of bacteria (**table 1**). The commercial drug Cypronex showed the highest antibacterial activity. The antibacterial activity of the medicines Rotokan, Chlorophyllipt, Eucalyptus tincture, and Dekasan was significantly lower than Tsypronex but almost twice as high compared to water-ethanol solutions. Phytopreparation Rotokan, which includes chamomile, calendula, and yarrow extracts, showed the highest antibacterial effect against *P. vulgaris*, *B. subtilis*, and *S. albus*. *E. coli*, *P. fluorescens*, and *M. luteus* were the least sensitive to Rotokan. *B. subtilis* and *M. luteus* were sensitive to Chlorophyllipt and Eucalyptus tincture.

Antibacterial extracts activity of shoots collected at the first stage of vegetation. Extracts of shoots of *V. corymbosum* of the Bluejay variety collected at the first stage of vegetation had low antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria (**table 2**). The highest antibacterial activity was observed in extracts with 80% AE against *E. coli* and *P. vulgaris*, which corresponded to the level of antibacterial activity of the drug Chlorophyllipt. Extracts with 70% AE were effective against *P. vulgaris* and *B. subtilis*. The aqueous extract showed low antibacterial activity. In general, the antibacterial extracts activity of shoots collected at the I stage of vegetation was lower than the antibacterial activity of commercial drugs.

Antibacterial extracts activity of shoots collected at the II stage of vegetation. The aqueous extract of shoots collected at the II stage of vegetation showed the highest antibacterial activity against *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. fluorescens*, *P. vulgaris*, and *S. albus* (**table 2**). *E. coli* was found to be insensitive to the aqueous extract. *B. subtilis* was found to be sensitive to all AE extracts. Extracts with 20-50% AE were effective against *P. fluorescens*. High activity against *M. luteus* and *S. albus* was shown by extracts with 60-80% AE. The sensitivity to the specified extracts in the selected strains was higher than to the commercial drugs used as reference.

Antibacterial extracts activity of shoots collected at the III stage of vegetation. *P. vulgaris* and *B. subtilis* were highly sensitive to extracts of shoots with 70% and

Table 2 – Antibacterial extracts activity of shoots of *V. corymbosum* variety Bludjei

Samples: stages of vegetation; extract agent		Diameter of growth retardation zone, mm					
		Gram-negative bacteria			Gram-positive bacteria		
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus albus</i>
I	H ₂ O	7,67±0,577 ^{abde}	6,67±1,155 ^{abde}	9,33±1,155 ^{abe}	8,00±1,000 ^{abde}	7,67±1,155 ^{ab}	6,00±1,000 ^{abd}
	20% AE	5,67±0,577 ^{abef}	6,33±0,577 ^{df}	6,33±1,528 ^{bef}	6,33±0,577 ^{abdef}	8,33±0,577 ^{abdef}	6,67±0,577 ^{abdef}
	30% AE	5,67±0,577 ^{aef}	6,67±1,155 ^{abdf}	7,67±0,577 ^{abef}	6,33±0,577 ^{abdef}	9,33±0,577 ^{abd}	5,67±0,577 ^{abd}
	40% AE	6,33±0,577 ^{ab}	6,33±0,577 ^{aef}	9,67±1,528 ^{abdef}	6,00±1,000 ^{abdf}	9,67±0,577 ^{ae}	6,33±0,577 ^{abef}
	50% AE	7,33±1,528 ^{abef}	6,67±1,155 ^{abdef}	9,33±1,155 ^{aef}	6,67±0,577 ^{bdef}	7,67±0,577 ^{abef}	6,67±1,528 ^{abdf}
	60% AE	6,67±0,577 ^{abdef}	6,67±0,577 ^{abdf}	8,33±1,155 ^{abdef}	6,67±1,155 ^{def}	6,33±1,155 ^{abdef}	7,33±1,155 ^{abdef}
	70% AE	9,00±1,732 ^{abdf}	8,67±1,155 ^{abdf}	10,33±2,082 ^{bdef}	10,33±0,577 ^{abdef}	9,67±1,528 ^{def}	8,67±1,528 ^{abdef}
	80% AE	11,33±1,155 ^{def}	9,33±0,577 ^{abf}	10,33±0,577 ^{abd}	7,67±0,577 ^{abdef}	9,67±1,528 ^{abef}	9,33±1,155 ^{abdef}
II	H ₂ O	7,67±0,577 ^{abef}	20,33±0,577 ^{abdef}	18,67±1,528 ^{abd}	29,00±4,583 ^{abd}	29,67±1,528 ^{abdef}	24,67±2,517 ^{abdef}
	20% AE	10,67±1,155 ^{aef}	19,67±1,528 ^{abdef}	19,67±2,517 ^{abdef}	18,33±5,686 ^{de}	14,67±1,528 ^{abd}	15,33±1,528 ^{bef}
	30% AE	15,00±2,000 ^{bdef}	20,33±0,577 ^{abdef}	14,33±4,041 ^{abef}	16,00±5,292 ^{abef}	11,67±1,528 ^{abdef}	15,67±2,082 ^{abdef}
	40% AE	14,67±0,577 ^{abdef}	19,33±1,155 ^{abdef}	14,67±2,517 ^{abdef}	17,67±2,517 ^{abdef}	12,33±0,577 ^{abef}	16,67±2,887 ^{abd}
	50% AE	14,67±0,577 ^{abef}	20,33±0,577 ^{abdef}	19,00±1,732 ^{abdef}	18,67±1,528 ^{aef}	15,00±1,000 ^{aef}	20,33±2,517 ^{abdef}
	60% AE	9,33±1,155 ^{abdf}	10,67±1,155 ^{abdef}	14,33±1,155 ^{abdef}	19,33±0,577 ^{abdef}	22,33±5,859 ^{abef}	19,00±1,732 ^{abdef}
	70% AE	11,33±1,155 ^{abdef}	8,67±1,528 ^{abdef}	20,33±0,577 ^{abdef}	19,33±2,082 ^{abdf}	19,67±1,528 ^{abef}	19,33±1,155 ^{abdef}
	80% AE	11,67±0,577 ^{def}	10,33±0,577 ^{abdef}	14,33±1,155 ^{aef}	24,33±3,055 ^{bde}	19,33±0,577 ^{abdf}	18,00±2,646 ^{abdef}
III	H ₂ O	8,33±1,528 ^{abef}	5,67±0,577 ^{abdef}	7,67±0,577 ^{de}	12,33±1,528 ^{abd}	6,67±1,155 ^{ade}	6,67±1,155 ^{abde}
	20% AE	11,67±1,528 ^{abef}	8,00±1,732 ^{abdef}	9,33±1,528 ^{abd}	10,67±1,155 ^{abdef}	8,33±0,577 ^{abdf}	9,67±2,082 ^{abdef}
	30% AE	10,67±1,155 ^{aef}	10,33±1,528 ^{abdef}	11,67±1,155 ^{abdef}	11,33±1,528 ^{bef}	8,33±0,577 ^{abdef}	10,33±0,577 ^{abef}
	40% AE	10,33±0,577 ^{abde}	10,33±1,155 ^{abdef}	4,33±5,774 ^{abdef}	12,67±1,155 ^{abef}	9,33±1,155 ^{abef}	11,00±1,000 ^{def}
	50% AE	13,67±1,528 ^{def}	11,67±1,155 ^{abdef}	23,33±2,887 ^{aef}	12,67±3,055 ^{ab}	20,33±1,528 ^{abd}	14,67±1,528 ^{abef}
	60% AE	15,33±1,528 ^{abdf}	10,67±1,155 ^{abdef}	14,67±1,528 ^{abef}	10,67±1,528 ^{abdef}	15,67±1,155 ^{abef}	14,33±1,155 ^{abe}
	70% AE	11,67±1,528 ^{bde}	15,00±2,000 ^{abdef}	23,00±2,646 ^{ae}	24,00±2,646 ^{abdf}	13,00±2,000 ^{def}	15,33±1,528 ^{ade}
	80% AE	14,00±1,732 ^{abdef}	18,67±2,309 ^{abef}	20,33±1,528 ^{abdef}	20,33±1,528 ^{abdef}	18,00±2,000 ^{abe}	18,33±2,887 ^{abdef}
IV	H ₂ O	7,67±2,082 ^{abef}	8,67±1,155 ^{ade}	10,33±0,577 ^{abdf}	8,00±1,732 ^{abdef}	10,67±1,155 ^{abdef}	9,00±1,732 ^{aef}
	20% AE	10,33±1,528 ^{abd}	8,00±1,732 ^{abdef}	11,33±1,528 ^{aef}	9,67±2,082 ^{abdef}	10,00±1,000 ^{abef}	10,33±0,577 ^{abdef}
	30% AE	10,00±1,732 ^{abdf}	8,67±0,577 ^{bdef}	9,33±0,577 ^{abdef}	11,00±1,000 ^{abef}	10,33±0,577 ^{abdef}	7,67±0,577 ^{abdef}
	40% AE	10,00±1,732 ^{abef}	9,67±2,517 ^{abde}	9,67±1,528 ^{bdf}	10,67±1,528 ^{abdef}	9,67±0,577 ^{aef}	10,33±1,155 ^{abd}
	50% AE	9,67±1,528 ^{abdef}	10,33±1,155 ^{ab}	11,67±0,577 ^{abef}	11,33±2,082 ^{aef}	10,33±1,528 ^{abef}	14,33±2,082 ^{abef}
	60% AE	10,67±1,528 ^{abef}	15,33±1,155 ^{def}	14,67±2,082 ^{abdef}	13,33±1,528 ^{abef}	10,33±1,528 ^{aef}	19,67±1,528 ^{bdef}
	70% AE	8,67±1,528 ^{adf}	15,33±1,528 ^{abdf}	12,33±2,517 ^{abd}	9,67±1,528 ^{abdef}	19,67±0,577 ^{abd}	19,33±1,155 ^{def}
	80% AE	9,67±1,155 ^{def}	24,33±2,082 ^{aef}	24,33±1,155 ^{abef}	15,33±1,528 ^{abe}	14,33±2,082 ^{aef}	19,67±3,215 ^{abef}

Notes: Average values and standard deviations were obtained from zones of inhibition to determine statistical significance (p-value <0.05), which was established by comparing the studied mean values of the sample and control mean values, respectively: a – Rotokan control, b – Chlorophyllipt control, c – control Eucalyptus tincture, d – control Dekasan, e – control Tsipraks, f – control aqueous ethanol

80% AE. The extract with 50% AE had high antibacterial activity against *P. vulgaris* and *M. luteus*. Antibacterial activity of extracts with 50-, 70-, and 80% AE against all tested bacterial strains was higher than commercial drugs (except Cipronex).

E. coli, *P. fluorescens*, and *S. albus* showed moderate sensitivity to extracts of shoots with 30-80% AE. Shoot extract with 20% AE had the lowest antibacterial activity against *P. fluorescens*, *S. albus*, *P. vulgaris*, and *M. luteus*, the last of which showed moderate sensitivity to extracts with 30 and 40% AE. *B. subtilis* was sensitive to the water extract, and *E. coli* was not.

Antibacterial extracts activity of shoots collected at the IV stage of vegetation. Shoots extract with 80% AE showed high antibacterial activity against *P. fluorescens* and *P. vulgaris*, and strains of gram-positive bacteria showed moderate sensitivity to this extract. Shoot extracts with 60-80% AE showed high antibacterial activity against *S. albus*; the extract with 70% AE was also ef-

fective against *M. luteus*. All gram-positive bacteria, as well as *P. fluorescens* and *P. vulgaris*, were moderately sensitive to extracts with 50-60% AE. *E. coli* was moderately sensitive to extracts with 20-40% and 60% AE. *P. vulgaris* and *M. luteus* were sensitive to the aqueous extract, while *P. fluorescens*, *B. subtilis*, and *S. albus* were moderately sensitive.

Conclusions. Extracts of high-growing *Bluejay* blueberry shoots prepared with 60-80% aqueous ethanol had high antibacterial activity against all tested strains: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* and *Micrococcus luteus*.

Prospects for further research. Extracts of blueberry shoots of the high-growing *Bluejay* variety can be considered promising for further study in manufacturing drug forms with antimicrobial activity.

References

1. Yavorska N, Vorobets N. Photosynthetic pigments in shoots of *Vaccinium corymbosum* L. (cv. Elliott). Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. 2019;3:93-100. DOI: //doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2019.2585-8246.093-100.
2. Yavorska NY, Vorobets NM. Seasonal variation in the ascorbic and organic acids content in shoots of highbush blueberry cultivars during vegetation stages. Med. Clin Chemistry. 2020;22(2):31-8. DOI: https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2020.v.i2.11355.
3. Yavorska NY, Vorobets NM, Salyha YT, Vishchur OI. Preliminary comparative phytochemical screening and antioxidant activity of varieties *Vaccinium corymbosum* L. (Ericaceae) shoot' extracts. The Animal Biology. 2020;22(4):3-8. DOI: https://doi.org/10.15407/animbiol22.04.003.
4. Yavorska N, Vorobets N, Vishchur OI. Arbutin content in *Vaccinium corymbosum* L. shoots during stages of phenological development. Polish Journal of Science. 2021;1(36):25-8.
5. Vorobets NM, Yavorska HV, Fafula R, Zazuliak T. Content of mobile elements in the soil and their accumulation in the shoots and fruits of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) and bogberry (*V. uliginosum*). Letters of Applied NanoBio Science. 2022;11(1):3270-3277. DOI: https://doi.org/10.33263/LIANBS111.32703277.
6. Vorobets NM, Yavorska HV. Modifications of agar diffusion method to determination of the antimicrobial effect of the herbal medicinal products. Ukrainian Biopharmaceutical Journal. 2016;2(43):80-4.
7. Hudz SP, Hnatush SO, Yavorska GV, Bilinska IS. Praktykum z mikrobiolohiyi. Lviv: Vyd. tsentr LNU imeni Ivana Franka; 2014. 436 s. [in Ukrainian].

АНТИБАКТЕРІЙНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ПАГОНІВ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L.

Яворська Г. В., Воробець Н. М., Яворська Н. Й., Фафула Р. В.

Резюме. Пагони *Vaccinium corymbosum* містять багато біоактивних сполук (БАС), що робить їх особливо цінними для фармацевтичного та медичного застосування. Оскільки вміст БАС залежить від сорту та фази розвитку, на якій відбирається рослинна сировина, для дослідження було обрано ранньостиглий сорт лохини високорослої Блуджей, а сировину (пагони) відбирали на різних етапах фізіологічного розвитку. Цей підхід було розроблено для визначення антибактеріальної активності екстрактів пагонів *V. corymbosum*.

Пагони *V. corymbosum* сорту Блуджей, збирали у фазах цвітіння (I), плодоношення (II), після плодоношення (III) і стадії зимового спокою (IV), висушували, подрібнювали до порошкоподібного стану і з них готували водні та водно-етанольні (ВЕ) екстракти методом мацерації. Ці екстракти випробовували щодо їх антибактеріальної дії проти музейних штамів грампозитивних і грамнегативних бактерій. Як контроль розчинника використовували етанол різних концентрацій, а як стандартний позитивний контроль – антисептики Декасан, Ротокан, Евкалипта настоянку, Хлорофіліпт, Ципронекс. Використовували адаптований раніше метод дифузії в агарі з використанням модифікації за допомогою лунок і циліндриків.

Доведено різну антибактеріальну активність екстрактів: екстракти пагонів, зібраних на I етапі вегетації, мали низьку антибактеріальну активність щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій і нижчу порівняно з комерційними препаратами. Водний екстракт пагонів, зібраних на II етапі вегетації, виявляв найвищу антибактеріальну активність щодо: *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. fluorescens*, *P. vulgaris* та *S. albus*, але не щодо *E. coli*. *P. vulgaris* і *B. subtilis* виявилися високочутливими до екстрактів пагонів з 70% і 80% ВЕ (III стадія); екстракт з 50% ВЕ мав високу антибактеріальну активність щодо *P. vulgaris* та *M. luteus*; антибактеріальна активність екстрактів з 50-, 70-, 80% ВЕ відносно всіх досліджених штамів бактерій була вищою, ніж комерційних препаратів (крім Ципронексу). Екстракт пагонів з 80% ВЕ (IV стадія вегетації) виявив високу антибактеріальну активність щодо *P. fluorescens* і *P. vulgaris*, а штами грампозитивних бактерій – помірну чутливість до нього.

Екстракти пагонів лохини високорослої сорту Блуджей, виготовлені з 60-80% водним етанолом, мали високу антибактеріальну активність щодо *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* і *Micrococcus luteus*, тому їх можна вважати перспективними для подальших досліджень у виробництві нових ліків.

Ключові слова: *Vaccinium corymbosum* сорт Блуджей, антибактеріальна активність

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. SHOOTS

Yavorska H. V., Vorobets N. M., Yavorska N. Y., Fafula R. V.

Abstract. Shoots of *Vaccinium corymbosum* contain rich bioactive phytochemicals, which makes them particularly valuable for pharmaceutical and medical applications. Since the content of bioactive compounds depends on the variety and the phase of development at which plant raw materials are selected, the Bluejay variety of highbush blueberry with early fruit ripening was selected for research, and the raw materials (shoots) were choosed at different stages of vegetation. This new approach was developed to determine the antibacterial activity of *V. corymbosum* shoot extracts.

Shoots of *V. corymbosum* cv. Blujay, collected in the phases of flowering (I), fruiting (II), after fruiting (III) and the stage of winter dormancy (IV), dried, ground to a powdery state, and aqueous and aqueous ethanol (AE) extracts of various concentrations were prepared from them by maceration method. This crude extract was subjected to antibacterial activity against museum strains of gram-positive and gram-negative bacteria. Ethanol of various concentrations was used as solvent control, as well as antiseptic drugs Decasan, Rotocan, Tinctura Eucalypti, and Chlorophyllipt, Cipronex (ciprofloxacin) were used as standard positive controls. The agar diffusion method as adapted earlier using in modification by the wells and cylinders was used.

The different antibacterial activity of the extracts has been proved: Extracts of shoots collected at the I stage of vegetation had low antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria, and lower compared to commercial preparations. The aqueous extract of shoots collected at the II stage of vegetation showed the highest antibacterial activity against: *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. fluorescens*, *P. vulgaris* and *S. albus*, but not for *E. coli*. *P. vulgaris* and *B. subtilis* were highly sensitive to extracts of shoots with 70% and 80% AE (III stage); the extract with

50% AE had high antibacterial activity against *P. vulgaris* and *M. luteus*; antibacterial activity of extracts with 50-, 70-, 80% AE against all tested bacterial strains was higher than commercial drugs (except Cipronex). Shoot extract with 80% AE (IV stage of vegetation) showed high antibacterial activity against *P. fluorescens* and *P. vulgaris*, and strains of gram-positive bacteria showed moderate sensitivity to it.

Extracts of high-growing blueberry shoots of the Bluejay variety, made with 60-80% aqueous ethanol, had high antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* and *Micrococcus luteus*, so they can be considered promising for further research in the manufacture of new drugs.

Key words: *Vaccinium corymbosum* variety Bluejay, antibacterial activity.

ORCID and contributionship:

Yavorska H. V.: 0000-0002-0641-079 ^{BEF}

Vorobets N. M.: 0000-0002-3831-5871 ^{ADEF}

Yavorska N. Y.: 0000-0001-5937-3344 ^B

Fafula R. V.: 0000-0002-0121-9093 ^{CF}

Conflict of interest:

The authors of the paper confirm the absence of conflict of interest.

Corresponding author

Vorobets Nataliya Mykolayivna

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Ukraine, 79010, Lviv, 69 Pekarska str.

Tel: 0933826040

E-mail: vorobetsnatalia@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 17.03.2022

Accepted 26.08.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-3-166-120-128

УДК 582.688.31:615.32:615.281

*Яворська Г. В., **Воробець Н. М., **Яворська Н. Й., **Фафула Р. В.

АНТИБАКТЕРІЙНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ПАГОНІВ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L

*Львівський національний університет імені Івана Франка (м. Львів, Україна)

**Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів, Україна)

vorobetsnatalia@gmail.com

У статті висвітлено результати досліджень антибактерійної активності екстрактів пагонів інтродукованого виду лохини високорослої *Vaccinium corymbosum* L. сорту Блуджей щодо грам-позитивних і грам-негативних бактерій. Сорт Блуджей відноситься до групи ранньостиглих. Оскільки вміст біологічно активних сполук може змінюватись в різні фази фізіологічного розвитку, рослинну сировину відбирали на чотирьох фазах розвитку: цвітіння, плодоношення, восени після плодоношення, підготовки до зимового спокою. Екстракти з водним етанолом різної концентрації готували методом мацерації, а водні шляхом суспендування на водяній лазні зі зворотним холодильником за Державною фармакопеею України. Виявлено, що чутливість водних та водно-етанольних екстрактів *V. corymbosum* залежить від стадії розвитку на якій відбирали рослинну сировину та від екстрагенту. Чутливість як грам-позитивних так і грам-негативних бактерій до водних і водно-етанольних екстрактів була вищою порівняно з тою, що показана нами до більшості застосованих комерційних препаратів.

Таким чином, за результатами проведених досліджень можна вважати пагони лохини високорослої перспективними для подальших досліджень при виготовленні лікарських форм з антибактерійними властивостями щодо *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* і *Micrococcus luteus*

Ключові слова: *Vaccinium corymbosum* сорт Блуджей, антибактерійна активність.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження проведені в рамках наукової теми «Синтез та перетворення нових фізіологічно-активних речовин – похідних неконденсованих і конденсованих сульфур- і нітрогеновмісних гетероциклів та споріднених гетероциклічних систем, з використанням методів in silico моделювання, ви-

вчення фізико-хімічних властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів дикорослих та культивованих рослин західного регіону України з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських засобів нових складів та опрацювання сучасних

методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу». Державний реєстраційний номер 0121U107504.

Вступ. Лікарські рослини (ЛР) традиційно визначають як такі, що використовують для лікування різних захворювань, включаючи шлунково-кишкові розлади, шкірні, печінкові, серцево-судинні та онкологічні, проблеми з диханням і сечовипусканням. Ці рослини синтезують різноманітний набір біологічно активних сполук (БАС), які є важливими для виживання та процвітання в природному середовищі людини і тварин, включаючи захисні функції щодо абіотичних стресів, спричинених змінами кліматичних факторів, якістю води і повітря, постачання мінеральними поживними речовинами, а також біотичними – живими чинниками, включаючи віруси. Склад БАС лікарських рослин доволі змінний залежно від виду рослин, типу ґрунту та умов зростання. БАС є складовими не лише ЛР, а й тих видів, які є звичною їжею для людини і тварин. Ці біологічно активні вторинні метаболіти, синтезовані лікарськими рослинами, можуть також сильно впливати на фізіологічні функції ссавців, які їх споживають. Особливо це стосується БАС, які мають антиоксидантні властивості. Хоча велику кількість ЛР було добре вивчено щодо їх фітохімічного складу та фармакологічних властивостей, залишаються недостатньо вивченими ті види, які інтродуковані в нових регіонах або/і ті їх органи, яких традиційно досі не використовували. Одним з таких об'єктів є лохина високоросла – *Vaccinium corymbosum* L., що є типовим північноамериканським видом, інтродукована в багатьох регіонах планети зі сприятливими для зростання кліматичними умовами. Протягом понад сто років створено численні сорти *V. corymbosum*, які відрізняються термінами дозрівання плодів. Саме хімічний склад плодів *V. corymbosum* і їх вплив на організм ссавців найбільш вивчені, щодо інших органів наукової інформації значно менше. У попередніх дослідженнях нами виявлений високий вміст БАС у пагонах лохини високорослої з антиоксидантною активністю [1-5].

Метою даної роботи було визначення антимікробної активності екстрактів пагонів *V. corymbosum*.

Об'єкт і методи дослідження. Пагони *V. corymbosum* L. сорту Блуджей (Bluejay) – сорт ранніх термінів дозрівання плодів) зібрано на 4-х стадіях роз-

витку рослин: I – цвітіння, II – плодоношення, III – восени після плодоношення, IV – підготовки до зимового спокою. Висушені пагони гомогенізували, а отримані порошки збирали, пропускали крізь сито з діаметром 2 мм і використовували для екстракції. Водний екстракт одержували шляхом суспендування 2 г матеріалу в 20 мл дистильованої води при кип'ятінні зі зворотним холодильником на киплячій водянній лазні протягом 30 хвилин. Для приготування екстрактів використовували також водний етанол різних концентрацій (20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 96%). Екстракти готували методом мацерації відповідно до Державної фармакопеї України (1:10 / вага: об'єм /г: мл, 14 днів у темряві при 25°C). Після завершення процесу екстракції кожен екстракт фільтрували через фільтрувальний папір Whatman № 1, а одержані розчини досліджували на антибактерійну активність.

Антибактерійну активність визначали з використанням мікроорганізмів, отриманих з колекцій культур кафедри мікробіології Львівського національного університету імені Івана Франка. Культури взяті для дослідження: *Escherichia coli* Б-4-Е, *Bacillus subtilis* Б-10-В, *Staphylococcus albus* Б-16-Ст, *Pseudomonas fluorescens* Б-20-Пс, *Proteus vulgaris* Б-26-Пр і *Micrococcus luteus* Б-29-М. Використовували метод дифузії в агар в модифікаціях лунок чи циліндриків [6, 7]. У чашки Петрі заливали до 20 мл стерильного середовища МПА температурою до +50°C. Після застигання щільного живильного середовища на його поверхню крапали 0,2 мл суспензії мікроорганізмів і розтирали шпателем Дригальського для отримання суцільного росту («газоном»). Суспензії готували в окремих пробірках у дистильованій стерильній воді з одно- або дводобових культур бактерій. Концентрацію мікроорганізмів у суспензії визначали на фотоелектроколориметрі за відповідних довжин хвилі у кюветі з оптичним шляхом 3 мм, використовуючи для посіву з біомасою від 0,1 до 0,5 мг/мл. Через 20–30 хв на поверхню засіяного середовища встановлювали скляні циліндрики діаметром 5 мм (4–5 шт) або робили профламованим штампом лунки діаметром 6 мм (4–5 шт). Тоді в лунки чи циліндрики вносили досліджуваний зразок водного чи етанольного екстракту з рослин в кількості 0,2 мл. У таких же кількостях додавали контролі (по 0,2 мл

Таблиця 1 – Антибактерійна активність контрольних зразків

Зразки	Діаметр зони затримки росту, мм					
	Грамнегативні бактерії			Грамположитивні бактерії		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus albus</i>
Ротокан	10,00±0,000	10,67±4,509	17,00±4,359	13,00±2,646	10,33±0,577	13,00±2,646
Хлорофіліпт	11,67±0,577	9,67±0,577	11,67±0,577	14,67±0,577	14,67±0,577	9,67±0,577
Евкалипта настоянка	12,00±1,000	12,67±1,155	14,67±0,577	13,33±1,155	13,33±0,577	11,67±0,577
Декасан	12,33±0,577	10,67±0,577	10,67±0,577	10,67±0,577	9,33±0,577	10,67±0,577
Ципронекс, 0,3%	50,00±0,000	50,00±0,000	30,00±0,000	50,00±0,000	50,00±0,000	50,00±0,000
20% ВЕ	6,67±0,577	6,33±0,577	6,33±0,577	6,33±0,577	6,67±0,577	6,33±0,577
30% ВЕ	6,33±0,577	6,00±0,000	6,67±1,155	7,33±0,577	5,67±0,577	5,67±0,577
40% ВЕ	6,00±1,00	6,00±1,000	6,33±0,577	6,33±0,577	6,67±1,528	6,00±1,000
50% ВЕ	6,67±0,577	6,33±0,577	6,67±0,577	6,67±0,577	6,67±0,577	6,67±0,577
60% ВЕ	6,67±0,577	6,00±0,000	6,33±0,577	6,67±0,577	6,00±0,000	6,67±0,577
70% ВЕ	7,00±1,000	5,67±0,577	6,67±0,577	7,00±1,00	6,00±1,000	6,33±0,577
80% ВЕ	6,33±0,577	6,33±0,577	6,33±0,577	6,67±1,528	5,67±0,577	5,67±0,577

Таблиця 2 – Антибактерійна активність екстрактів пагонів *V. corymbosum* сорту Блуджей

Зразки: стадії вегетації; екстрагент		Діаметр зони затримки росту, мм					
		Грам-негативні бактерії			Грам-позитивні бактерії		
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus albus</i>
I	H ₂ O	7,67±0,577 ^{abde}	6,67±1,155 ^{abde}	9,33±1,155 ^{abe}	8,00±1,000 ^{abde}	7,67±1,155 ^{ab}	6,00±1,000 ^{abd}
	20% BE	5,67±0,577 ^{abef}	6,33±0,577 ^{df}	6,33±1,528 ^{bef}	6,33±0,577 ^{abdef}	8,33±0,577 ^{abdef}	6,67±0,577 ^{abdef}
	30% BE	5,67±0,577 ^{aef}	6,67±1,155 ^{abdf}	7,67±0,577 ^{abef}	6,33±0,577 ^{abdef}	9,33±0,577 ^{abd}	5,67±0,577 ^{abd}
	40% BE	6,33±0,577 ^{ab}	6,33±0,577 ^{aef}	9,67±1,528 ^{abdef}	6,00±1,000 ^{abdf}	9,67±0,577 ^{ae}	6,33±0,577 ^{abef}
	50% BE	7,33±1,528 ^{abef}	6,67±1,155 ^{abdef}	9,33±1,155 ^{aef}	6,67±0,577 ^{bdef}	7,67±0,577 ^{abef}	6,67±1,528 ^{abdf}
	60% BE	6,67±0,577 ^{abdef}	6,67±0,577 ^{abdf}	8,33±1,155 ^{abdef}	6,67±1,155 ^{def}	6,33±1,155 ^{abdef}	7,33±1,155 ^{abdef}
	70% BE	9,00±1,732 ^{abdf}	8,67±1,155 ^{abdf}	10,33±2,082 ^{bdef}	10,33±0,577 ^{abdef}	9,67±1,528 ^{def}	8,67±1,528 ^{abdef}
	80% BE	11,33±1,155 ^{def}	9,33±0,577 ^{abf}	10,33±0,577 ^{abd}	7,67±0,577 ^{abdef}	9,67±1,528 ^{abef}	9,33±1,155 ^{abdef}
II	H ₂ O	7,67±0,577 ^{abef}	20,33±0,577 ^{abdef}	18,67±1,528 ^{abd}	29,00±4,583 ^{abd}	29,67±1,528 ^{abdef}	24,67±2,517 ^{abdef}
	20% BE	10,67±1,155 ^{aef}	19,67±1,528 ^{abdef}	19,67±2,517 ^{abdef}	18,33±5,686 ^{de}	14,67±1,528 ^{abd}	15,33±1,528 ^{bef}
	30% BE	15,00±2,000 ^{bdef}	20,33±0,577 ^{abdef}	14,33±4,041 ^{abef}	16,00±5,292 ^{abef}	11,67±1,528 ^{abdef}	15,67±2,082 ^{abdef}
	40% BE	14,67±0,577 ^{abdef}	19,33±1,155 ^{abdef}	14,67±2,517 ^{abdef}	17,67±2,517 ^{abdef}	12,33±0,577 ^{abef}	16,67±2,887 ^{abd}
	50% BE	14,67±0,577 ^{abef}	20,33±0,577 ^{abdef}	19,00±1,732 ^{abdef}	18,67±1,528 ^{aef}	15,00±1,000 ^{aef}	20,33±2,517 ^{abdef}
	60% BE	9,33±1,155 ^{abdf}	10,67±1,155 ^{abdef}	14,33±1,155 ^{abdef}	19,33±0,577 ^{abdef}	22,33±5,859 ^{abef}	19,00±1,732 ^{abdef}
	70% BE	11,33±1,155 ^{abdef}	8,67±1,528 ^{abdef}	20,33±0,577 ^{abdef}	19,33±2,082 ^{abdf}	19,67±1,528 ^{abef}	19,33±1,155 ^{abdef}
	80% BE	11,67±0,577 ^{def}	10,33±0,577 ^{abdef}	14,33±1,155 ^{aef}	24,33±3,055 ^{bde}	19,33±0,577 ^{abdf}	18,00±2,646 ^{abdef}
III	H ₂ O	8,33±1,528 ^{abef}	5,67±0,577 ^{abdef}	7,67±0,577 ^{de}	12,33±1,528 ^{abd}	6,67±1,155 ^{ade}	6,67±1,155 ^{abde}
	20% BE	11,67±1,528 ^{abef}	8,00±1,732 ^{abdef}	9,33±1,528 ^{abd}	10,67±1,155 ^{abdef}	8,33±0,577 ^{abdf}	9,67±2,082 ^{abdef}
	30% BE	10,67±1,155 ^{aef}	10,33±1,528 ^{abdef}	11,67±1,155 ^{abdef}	11,33±1,528 ^{bef}	8,33±0,577 ^{abdef}	10,33±0,577 ^{abef}
	40% BE	10,33±0,577 ^{abde}	10,33±1,155 ^{abdef}	4,33±5,774 ^{abdef}	12,67±1,155 ^{abef}	9,33±1,155 ^{abef}	11,00±1,000 ^{def}
	50% BE	13,67±1,528 ^{def}	11,67±1,155 ^{abdef}	23,33±2,887 ^{aef}	12,67±3,055 ^{ab}	20,33±1,528 ^{abd}	14,67±1,528 ^{abef}
	60% BE	15,33±1,528 ^{abdf}	10,67±1,155 ^{abdef}	14,67±1,528 ^{abef}	10,67±1,528 ^{abdef}	15,67±1,155 ^{abef}	14,33±1,155 ^{abe}
	70% BE	11,67±1,528 ^{bde}	15,00±2,000 ^{abdef}	23,00±2,646 ^{ae}	24,00±2,646 ^{abdf}	13,00±2,000 ^{def}	15,33±1,528 ^{ade}
	80% BE	14,00±1,732 ^{abdef}	18,67±2,309 ^{abef}	20,33±1,528 ^{abdef}	20,33±1,528 ^{abdef}	18,00±2,000 ^{abe}	18,33±2,887 ^{abdef}
IV	H ₂ O	7,67±2,082 ^{abef}	8,67±1,155 ^{ade}	10,33±0,577 ^{abdf}	8,00±1,732 ^{abdef}	10,67±1,155 ^{abdef}	9,00±1,732 ^{aef}
	20% BE	10,33±1,528 ^{abd}	8,00±1,732 ^{abdef}	11,33±1,528 ^{aef}	9,67±2,082 ^{abdef}	10,00±1,000 ^{abef}	10,33±0,577 ^{abdef}
	30% BE	10,00±1,732 ^{abdf}	8,67±0,577 ^{bdef}	9,33±0,577 ^{abdef}	11,00±1,000 ^{abef}	10,33±0,577 ^{abdef}	7,67±0,577 ^{abdef}
	40% BE	10,00±1,732 ^{abdef}	9,67±2,517 ^{abde}	9,67±1,528 ^{bdf}	10,67±1,528 ^{abdef}	9,67±0,577 ^{aef}	10,33±1,155 ^{abd}
	50% BE	9,67±1,528 ^{abdef}	10,33±1,155 ^{ab}	11,67±0,577 ^{abef}	11,33±2,082 ^{aef}	10,33±1,528 ^{abef}	14,33±2,082 ^{abef}
	60% BE	10,67±1,528 ^{abef}	15,33±1,155 ^{def}	14,67±2,082 ^{abdef}	13,33±1,528 ^{abdef}	10,33±1,528 ^{aef}	19,67±1,528 ^{bdef}
	70% BE	8,67±1,528 ^{adf}	15,33±1,528 ^{abdf}	12,33±2,517 ^{abd}	9,67±1,528 ^{abdef}	19,67±0,577 ^{abd}	19,33±1,155 ^{def}
	80% BE	9,67±1,155 ^{def}	24,33±2,082 ^{aef}	24,33±1,155 ^{abef}	15,33±1,528 ^{abe}	14,33±2,082 ^{aef}	19,67±3,215 ^{abef}

Примітки: середні значення та стандартні відхилення отримували із зон інгібування для визначення статистичної значущості (p-значення <0,05), яку було встановлено шляхом порівняння досліджуваних середніх значень вибірки та контрольних середніх значень відповідно: a – контроль Ротокан, b – контроль Хлорофіліпт, c – контроль Евкалипта настоянка, d – контроль Декасан, e – контроль Ципракс, f – контроль водний етанол

етанолу відповідної концентрації; розчини готували з використанням дистильованої води стерильної), 1 краплю Ципронексу (діюча речовина: ципрофлоксацин 3 мг/мл (0,3% розчин аптечний), Флюконазол 150 мг (розчиняли у стерильній воді 1 капсулу в 9 мл стерильної води до отримання однорідної суспензії, далі крапали піпеткою 0,2 мл), антисептичний препарат Декасан (Розчин дегіметоксину дигідрохлориду 0,02% по масі у воді з хлоридом натрію, ТОВ «Юрія-Фарм»), Евкалипта настоянка (Tinctura Eucalypti), ТОВ «Тернофарм», м. Тернопіль) та Хлорофіліпт (extractum chlorophyllipti spissum). Всі експерименти проводились щонайменше тричі. Засіяні чашки Петрі інкубували в термостаті за +28±2 С упродовж 24 год. Діаметр зон затримки росту тест-культур вимірювали в мм через одну або дві доби, включаючи діаметр лунки чи циліндрика. Для визначення антимікробної активності досліджуваних зразків використовували

наступну шкалу: діаметр зони затримки росту більше 20 мм – високочутливий; 10-20 мм – чутливий; до 10 мм – помірно чутливий. Значення в діапазоні від 6 до 8 мм вважалися неактивними щодо мікроорганізмів. Коли штам не виявляв активності, вказане значення дорівнювало нулю.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми Microsoft Excel. Достовірність змін встановлювали за t-критерієм Стьюдента. Достовірними вважали відмінності при рівні значимості не нижче 95% (p<0,05).

Результати дослідження та їх обговорення.

Антибактерійна активність контрольних зразків. Водний етанол у концентрації 20-80% виявився неактивним щодо усіх досліджених штамів бактерій (табл. 1). Найвищу антибактерійну активність показав комерційний препарат Ципронекс. Антибактерійна активність препаратів Ротокан, Хлорофіліпт, Евкалипта

настойка і Декасан була значно нижчою порівняно із препаратом Ципронекс, але майже удвічі вищою ніж до водно-етанольних розчинів. Фітопрепарат Ротокан, у склад якого входять екстракти ромашки, календули та деревію, проявив найвищу антибактерійну дію щодо *P. vulgaris*, *B. subtilis* і *S. albus*. найменш чутливими до Ротокану виявились *E. coli*, *P. fluorescens* і *M. luteus*. *B. subtilis* і *M. luteus* були чутливим до Хлорофіліпта та Евкаліпта настойки.

Антибактерійна активність екстрактів пагонів, зібраних на I стадії вегетації. Екстракти пагонів *V. corymbosum* сорту Блуджей, зібраних на I стадії вегетації мали невисоку антибактерійну активність щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій (табл. 2). Найвищу антибактерійну активність спостерігали у екстрактів з 80% ВЕ щодо *E. coli* і *P. vulgaris*, що відповідало рівню антибактерійної активності препарату Хлорофіліпт. Екстракти з 70% ВЕ були ефективними щодо *P. vulgaris* і *B. subtilis*. Водний екстракт проявив низьку антибактерійну активність. Загалом, рівень антибактерійної активності екстрактів пагонів, зібраних на I стадії вегетації, був нижчим від антибактерійної активності комерційних препаратів.

Антибактерійна активність екстрактів пагонів, зібраних на II стадії вегетації. Водний екстракт пагонів, зібраних на II стадії вегетації, проявив найвищу антибактерійну активність щодо: *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. fluorescens*, *P. vulgaris* і *S. albus* (табл. 2). *E. coli* виявилась нечутливою до водного екстракту. *B. subtilis* виявилась чутливою до усіх екстрактів з ВЕ. Екстракти з 20-50% ВЕ були ефективними щодо *P. fluorescens*. Високу активність щодо *M. luteus* і *S. albus* проявили екстракти з 60-80% ВЕ. Чутливість до зазначених екстрактів у вказаних штамів була вищою, ніж до комерційних препаратів, які застосовувались у якості референтних.

Антибактерійна активність екстрактів пагонів, зібраних на III стадії вегетації. Високочутливи-

ми до екстрактів пагонів з 70% і 80% ВЕ виявились *P. vulgaris* і *B. subtilis*. Високу антибактерійну активність мав екстракт з 50% ВЕ щодо *P. vulgaris* і *M. luteus*. Антибактерійна активність екстрактів з 50-, 70-, 80% ВЕ щодо усіх досліджених штамів бактерій була вищою від комерційних препаратів (окрім Ципронексу).

Помірну чутливість до екстрактів пагонів з 30-80% ВЕ проявили *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. albus*. Найнижчу антибактерійну активність мав екстракт пагонів з 20% ВЕ щодо *P. fluorescens*, *S. albus*, *P. vulgaris* і *M. luteus*, останній з яких виявив помірну чутливість щодо екстрактів із 30- і 40% ВЕ. До водного екстракту чутливою виявилась *B. subtilis* і не чутливою *E. coli*.

Антибактерійна активність екстрактів пагонів, зібраних на IV стадії вегетації. Високу антибактерійну активність виявив екстракт пагонів з 80% ВЕ щодо *P. fluorescens* і *P. vulgaris*, а штамми грампозитивних бактерій виявили помірну чутливість до даного екстракту. Екстракти пагонів з 60-80% ВЕ проявили високу антибактерійну активність щодо *S. albus*, екстракт з 70% ВЕ був ефективний і щодо *M. luteus*. До екстрактів з 50-60% ВЕ помірно чутливим були усі грампозитивні бактерії, а також *P. fluorescens* і *P. vulgaris*. *E. coli* була помірно чутливою до екстрактів з 20-40% і 60% ВЕ. До водного екстракту чутливими виявились *P. vulgaris* і *M. luteus*, а помірну чутливість мали *P. fluorescens*, *B. subtilis*, *S. albus*.

Висновки. Екстракти пагонів лохини високорослої сорту Блуджей, виготовлені з 60-80% водним етанолом мали високу антибактерійну активність щодо усіх досліджених штамів: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* і *Micrococcus luteus*.

Перспективи подальших досліджень. Екстракти пагонів лохини високорослої сорту Блуджей можна вважати перспективними для подальших досліджень при виготовленні лікарських форм з антимікробною активністю.

Література

1. Yavorska N, Vorobets N. Photosynthetic pigments in shoots of *Vaccinium corymbosum* L. (cv. Elliott). Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality. 2019;3:93-100. DOI: //doi.org/10.15414/agrobiodiversity.2019.2585-8246.093-100.
2. Yavorska NY, Vorobets NM. Seasonal variation in the ascorbic and organic acids content in shoots of highbush blueberry cultivars during vegetation stages. Med. Clin Chemistry. 2020;22(2):31-8. DOI: https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2020.v.i2.11355.
3. Yavorska NY, Vorobets NM, Salyha YT, Vishchur OI. Preliminary comparative phytochemical screening and antioxidant activity of varieties *Vaccinium corymbosum* L. (Ericaceae) shoot' extracts. The Animal Biology. 2020;22(4):3-8. DOI: https://doi.org/10.15407/animbiol22.04.003.
4. Yavorska N, Vorobets N, Vishchur OI. Arbutin content in *Vaccinium corymbosum* L. shoots during stages of phenological development. Polish Journal of Science. 2021;1(36):25-8.
5. Vorobets NM, Yavorska HV, Fafula R, Zazuliak T. Content of mobile elements in the soil and their accumulation in the shoots and fruits of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) and bogberry (*V. uliginosum*). Letters of Applied NanoBio Science. 2022;11(1):3270-3277. DOI: https://doi.org/10.33263/LIANBS11.32703277.
6. Vorobets NM, Yavorska HV. Modifications of agar diffusion method to determination of the antimicrobial effect of the herbal medicinal products. Ukrainian Biopharmaceutical Journal. 2016;2(43):80-4.
7. Hudz SP, Hnatush SO, Yavorska GV, Bilinska IS. Praktikum z mikrobiolohiyi. Lviv: Vyd. tsentr LNU imeni Ivana Franka; 2014. 436 s. [in Ukrainian].

АНТИБАКТЕРІЙНА АКТИВНІСТЬ ЕКСТРАКТІВ ПАГОНІВ *VACCINIUM CORYMBOSUM* L.

Яворська Г. В., Воробець Н. М., Яворська Н. Й., Фафула Р. В.

Резюме. Пагони *Vaccinium corymbosum* містять багато біоактивних сполук (БАС), що робить їх особливо цінними для фармацевтичного та медичного застосування. Оскільки вміст БАС залежить від сорту та фази розвитку, на якій відбирається рослинна сировина, для дослідження було обрано ранньостиглий сорт лохини високорослої Блуджей, а сировину (пагони) відбирали на різних етапах фізіологічного розвитку. Цей підхід було розроблено для визначення антибактеріальної активності екстрактів пагонів *V. corymbosum*.

Пагони *V. corymbosum* сорту Блуджей, збирали у фазах цвітіння (I), плодоношення (II), після плодоношення (III) і стадії зимового спокою (IV), висушували, подрібнювали до порошокподібного стану і з них готували водні та водно-етанольні (ВЕ) екстракти методом мацерації. Ці екстракти випробовували щодо їх антибактеріальної дії проти музейних штамів грампозитивних і грамнегативних бактерій. Як контроль розчинника використовували етанол різних концентрацій, а як стандартний позитивний контроль – антисептики Декасан,

Ротокан, Евкаліпта настоянку, Хлорофіліпт, Ципронекс. Використовували адаптований раніше метод дифузії в агарі з використанням модифікації за допомогою лунок і циліндриків.

Доведено різну антибактеріальну активність екстрактів: екстракти пагонів, зібраних на I етапі вегетації, мали низьку антибактеріальну активність щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій і нижчу порівняно з комерційними препаратами. Водний екстракт пагонів, зібраних на II етапі вегетації, виявляв найвищу антибактеріальну активність щодо: *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. fluorescens*, *P. vulgaris* та *S. albus*, але не щодо *E. coli*. *P. vulgaris* і *B. subtilis* виявилися високочутливими до екстрактів пагонів з 70% і 80% ВЕ (III стадія); екстракт з 50% ВЕ мав високу антибактеріальну активність щодо *P. vulgaris* та *M. luteus*; антибактеріальна активність екстрактів з 50-, 70-, 80% ВЕ відносно всіх досліджених штамів бактерій була вищою, ніж комерційних препаратів (крім Ципронексу). Екстракт пагонів з 80% ВЕ (IV стадія вегетації) виявив високу антибактеріальну активність щодо *P. fluorescens* і *P. vulgaris*, а штами грампозитивних бактерій – помірну чутливість до нього.

Екстракти пагонів лохини високорослої сорту Блуджей, виготовлені з 60-80% водним етанолом, мали високу антибактеріальну активність щодо *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* і *Micrococcus luteus*, тому їх можна вважати перспективними для подальших досліджень у виробництві нових ліків.

Ключові слова: *Vaccinium corymbosum* сорт Блуджей, антибактеріальна активність

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF *VACCINIUM CORYMBOSUM* L. SHOOTS

Yavorska H. V., Vorobets N. M., Yavorska N. Y., Fafula R. V.

Abstract. Shoots of *Vaccinium corymbosum* contain rich bioactive phytochemicals, which makes them particularly valuable for pharmaceutical and medical applications. Since the content of bioactive compounds depends on the variety and the phase of development at which plant raw materials are selected, the Bluejay variety of highbush blueberry with early fruit ripening was selected for research, and the raw materials (shoots) were choosed at different stages of vegetation. This new approach was developed to determine the antibacterial activity of *V. corymbosum* shoot extracts.

Shoots of *V. corymbosum* cv. Blujay, collected in the phases of flowering (I), fruiting (II), after fruiting (III) and the stage of winter dormancy (IV), dried, ground to a powdery state, and aqueous and aqueous ethanol (AE) extracts of various concentrations were prepared from them by maceration method. This crude extract was subjected to antibacterial activity against museum strains of gram-positive and gram-negative bacteria. Ethanol of various concentrations was used as solvent control, as well as antiseptic drugs Decasan, Rotocan, Tinctura Eucalypti, and Chlorophyllipt, Cipronex (ciprofloxacin) were used as standard positive controls. The agar diffusion method as adapted earlier using in modification by the wells and cylinders was used.

The different antibacterial activity of the extracts has been proved: Extracts of shoots collected at the I stage of vegetation had low antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria, and lower compared to commercial preparations. The aqueous extract of shoots collected at the II stage of vegetation showed the highest antibacterial activity against: *B. subtilis*, *M. luteus*, *P. fluorescens*, *P. vulgaris* and *S. albus*, but not for *E. coli*. *P. vulgaris* and *B. subtilis* were highly sensitive to extracts of shoots with 70% and 80% AE (III stage); the extract with 50% AE had high antibacterial activity against *P. vulgaris* and *M. luteus*; antibacterial activity of extracts with 50-, 70-, 80% AE against all tested bacterial strains was higher than commercial drugs (except Cipronex). Shoot extract with 80% AE (IV stage of vegetation) showed high antibacterial activity against *P. fluorescens* and *P. vulgaris*, and strains of gram-positive bacteria showed moderate sensitivity to it.

Extracts of high-growing blueberry shoots of the Bluejay variety, made with 60-80% aqueous ethanol, had high antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus vulgaris* and *Micrococcus luteus*, so they can be considered promising for further research in the manufacture of new drugs.

Key words: *Vaccinium corymbosum* variety Bluejay, antibacterial activity.

ORCID and contributionship:

Yavorska H. V.: 0000-0002-0641-079 ^{BEF}

Vorobets N. M.: 0000-0002-3831-5871 ^{ADEF}

Yavorska N. Y.: 0000-0001-5937-3344 ^B

Fafula R. V.: 0000-0002-0121-9093 ^{CF}

Conflict of interest:

The authors of the paper confirm the absence of conflict of interest.

Corresponding author

Vorobets Nataliya Mykolayivna

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Ukraine, 79010, Lviv, 69 Pekarska str.

Tel: 0933826040

E-mail: vorobetsnatalia@gmail.com

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 17.03.2022

Accepted 26.08.2022