

УДК 615.017:616.079;615.2/3.001.37

Оригинальная статья

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ ОЧИТКОВ (*SEDUM MAXIMUM* (L.) HOFFM., *SEDUM TELEPHIUM* L.), ПОЛУЧЕННЫХ РАЗНЫМИ МЕТОДАМИ

С. В. Райкова — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, кандидат медицинских наук; **Н. А. Дурнова** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, заведующая кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники, доцент, доктор биологических наук; **В. В. Приходько** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студентка; **Е. К. Немоляева** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, студентка; **В. О. Пластун** — ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского» Минздрава России, аспирант кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники.

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF HERBAL EXTRACTS FROM *SEDUM MAXIMUM* (L.) HOFFM., *SEDUM TELEPHIUM* L. RECEIVED BY DIFFERENT METHODS

S. V. Raikova — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Assistant Professor, Candidate of Medical Sciences; **N. A. Durnova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Biology, Pharmacognosy and Botany, Assistant Professor, Doctor of Biological Sciences; **V. V. Prikhodko** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Student; **E. K. Nemolyaeva** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Student; **V. O. Plastun** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Biology, Pharmacognosy and Botany, Post-graduate.

Дата поступления — 22.02.2017 г.

Дата принятия в печать — 15.05.2017 г.

Райкова С. В., Дурнова Н. А., Приходько В. В., Немоляева Е. К., Пластун В. О. Антимикробная активность экстрактов очитков (*Sedum maximum* (L.) Hoffm., *Sedum telephium* L.), полученных разными методами. Саратовский научно-медицинский журнал 2017; 13 (2): 213–216.

Цель: изучение антимикробной активности флавоноидсодержащих водных растворов спиртовых экстрактов очитков. **Материал и методы.** Объектом исследования являлись извлечения из очитка большого (*S. maximum* (L.) Hoffm.) и очитка пурпурного (*S. telephium* L.), полученные разными методами. В качестве тест-культур взяты *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27835, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 13108. **Результаты.** Определены минимальные подавляющие концентрации исследуемых флавоноидсодержащих водных растворов спиртовых экстрактов очитков для следующих тест-культур: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. **Заключение.** Обнаружено антибактериальное действие исследуемых экстрактов на все штаммы бактерий, взятые в эксперимент. Действие наиболее выражено в отношении *S. aureus*. Антимикотическая активность не выявлена.

Ключевые слова: антимикробная активность, флавоноиды, растительные экстракты.

Raikova SV, Durnova NA, Prikhodko VV, Nemolyaeva EK, Plastun VO. Antimicrobial activity of herbal extracts from *Sedum maximum* (L.) Hoffm., *Sedum telephium* L. received by different methods. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2017; 13 (2): 213–216.

The main goal of investigation was antimicrobial activity of herbal extracts from *Sedum maximum* (L.) Hoffm., *Sedum telephium* L. received by different methods. **Material and Methods.** Extractions from the purification of *S. maximum* (L.) Hoffm. and *S. telephium* L. obtained by different methods were the object of study. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27835, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 13108 were used as test cultures. **Results.** The minimum inhibitory concentrations of the investigated flavonoid-containing aqueous solutions of alcohol extracts of the purification were determined for the following test cultures: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*. **Conclusion.** The antibacterial effect of the studied extracts on all strains of bacteria taken in the experiment was detected. The action is most pronounced in relation to *S. aureus*. Antimycotic activity was not detected.

Key words: flavonoids, herbal extracts, antimicrobial activity.

Введение. Одной из фундаментальных задач современной медицины является поиск новых лекарственных средств с антимикробной активностью.

Спектр антимикробных средств, применяемых для борьбы с патогенными микроорганизмами, в связи с развившейся проблемой антибиотикорезистентности, неуклонно сужается, что служит дополнительным стимулом поиска новых средств с отличающимся от широко применяемых препаратов химиотерапии механизмом действия. Результаты ис-

Ответственный автор — Дурнова Наталья Анатольевна
Тел.: +79179800825
E-mail: ndurnova@mail.ru

следований последних лет свидетельствуют о том, что средства растительного происхождения являются весьма перспективными для применения в этой области и уже хорошо себя зарекомендовали [1].

Использование лекарственных растений в терапии многих заболеваний, нередко вялотекущих, как в комплексе с другими препаратами и методами, так и при индивидуальном применении, позволяет эффективно бороться с болезнью, при этом не влечет за собой большого количества нежелательных побочных эффектов [1–3].

Исследования антимикробной и ранозаживляющей активности лекарственного растительного сырья (ЛРС) растений рода Очиток, начатые ранее, показали, что водные растворы спиртовых экстрактов обладают антибактериальным действием [4–7]. При получении экстрактов для данных исследований использовался режим экстракции при температуре 90°C. Согласно имеющимся данным, основными действующими веществами исследуемых видов очитков являются флавоноиды [8], которые частично разрушаются при температурной обработке. В связи с этим была выдвинута гипотеза, что более низкая температура экстракции позволит сохранить от разрушения больше действующих веществ в составе композиции. Следовательно, представляет научный интерес как сравнение антибактериальной активности нового извлечения с результатами предыдущих экспериментов, так и изучение возможного противогрибкового эффекта экстрактов.

Цель: провести изучение антимикробной (антибактериальной и антимикотической) активности водных растворов спиртовых экстрактов очитка пурпурного и очитка большого, полученных при низкотемпературной экстракции.

Материал и методы. Объектом исследования послужили два вида флавоноидсодержащих растений из семейства Толстянковых: очиток большой (*S. maximum* (L.) Hoffm.) и очиток пурпурный (*S. telephium* L.). Основными действующими веществами указанных видов являются флавоноиды (кемпферол, мирицетин, изорамнетин, кверцетин, кемпферитин) и их гликозидные производные; органические кислоты: щавелевая, лимонная, яблочная, пальмитиновая, α -линоленовая, линолевая, янтарная, фумаровая, аскорбиновая; углеводы (глюкоза, фруктоза, сахароза, седогептулоза); кумарины (кумарин, эскулетин), алкалоиды (сединин, седамин, никотин); эфирные масла. Кроме того, в траве очитка большого присутствуют дубильные вещества, каротиноиды, полифенолы и другие вещества [8, 9]. Стоит отметить, что основная масса действующих веществ находится именно в наземной части растения: фенольные соединения в большинстве своем содержатся в цветках, полисахариды и органические кислоты в листьях [9].

Для проведения исследований ЛРС очитка пурпурного и очитка большого была использована трава, собранная в августе 2015 г. в период цветения на территории Балашовского района Саратовской области.

Извлечения из травы очитка пурпурного и очитка большого получены методом двукратной спиртовой экстракции. Для определения количественного содержания флавоноидов и исследования антимикробной активности получали спиртовые экстракты, очищенные и не очищенные хлороформом, из травы очитка пурпурного и очитка большого. Выделение флавоноидов из сырья проводилось по модифици-

рованной методике Н.В. Машурчака [10], которая ранее применялась для получения сухого экстракта из других видов ЛРС, обладающих биологической активностью. Необходимая модификация обусловлена специфическими особенностями сырья очитков: оно было зафиксировано в этаноле для предотвращения ферментативного разрушения флавоноидов, неизбежного при сушке суккулентов.

Навеску сырья массой 20 г измельчали в ступке, помещали коническую колбу и добавляли 40 мл 95%-ного этилового спирта. Колбу нагревали 45 мин на водяной бане при 55°C, затем фильтровали через бумажный складчатый фильтр в отдельную колбу. Далее проводили повторную экстракцию из этого сырья при тех же условиях. Полученные после обоих этапов экстракции извлечения объединяли, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали для удаления восков и мелкодисперсных примесей. Готовый экстракт представляет собой прозрачное извлечение темно-желтого цвета с характерным запахом этилового спирта. Затем экстракты выпаривали на теплой водяной бане, сухой остаток растворяли в нагретой до 40°C воде. После этого к части экстрактов добавляли по 2 мл хлороформа, интенсивно встряхивали в течение минуты, центрифугировали в течение 5–10 мин и отбирали водную фракцию, которую затем использовали в эксперименте. Прочие извлечения использовали без обработки хлороформом. Для приготовления матричных растворов экстракты упаривали на водяной бане при 50°C, полученный сухой остаток взвешивали и разбавляли дистиллированной водой из расчета 100 мг экстрактивных веществ на 1 мл воды.

Антимикробную активность водных растворов спиртовых экстрактов определяли в отношении стандартных штаммов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27835, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 13108, взятых из музея живых культур кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

Антибактериальная активность экстрактов изучалась методом серийных двукратных разведений экстрактов в среде Мюллера — Хинтона с концентрациями сухого экстракта от 50 до 3,13 мг/мл. Антигрибковая активность спиртовых экстрактов исследовалась в среде Сабуро при тех же разведениях.

Из суточных культур исследуемых штаммов (в случае исследования противогрибковой активности культуру выращивали двое суток) готовили взвеси с использованием стандарта мутности McFarland 10 ME, доводя конечную концентрацию микроорганизмов до $2 \cdot 10^6$ КОЕ/мл. В каждую пробирку с рабочим разведением экстракта вносили по 0,1 мл такой микробной взвеси. В контрольные пробирки помещалась взвесь микроорганизмов с питательной средой без экстракта. Смесь инкубировали в термостате в течение 24 ч (в случае изучения антигрибковой активности — 48 ч). Далее, отмечая последнюю пробирку с выраженной задержкой роста, производили учет результатов опыта. Количество исследуемого вещества в этой пробирке расценивалось как минимальная подавляющая концентрация (МПК).

Для оценки характера антимикробного действия производили высев на плотные питательные среды из опытных пробирок. Чашки помещали в термостат на сутки (в случае изучения антигрибковой активности на 48 ч). Через соответствующие промежутки

Таблица 1

Антимикробная активность (МПК мг/мл) водных растворов четырех видов спиртовых экстрактов очитков, полученных по новой низкотемпературной методике

Тип экстракта	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Водный раствор спиртового экстракта очитка большого (экстракт №1)	12,5	3,13	25	—
Водный раствор спиртового экстракта очитка большого, очищенный хлороформом (экстракт №2)	12,5	3,13	6,25	—
Водный раствор спиртового экстракта очитка пурпурного (экстракт №3)	50	6,25	25	—
Водный раствор спиртового экстракта очитка пурпурного, очищенный хлороформом (экстракт №4)	50	3,13	25	—

Таблица 2

Сравнительный анализ антибактериальной активности (МПК мг/мл) водных растворов четырех видов спиртовых экстрактов очитков, полученных по ранее использовавшейся и новой низкотемпературной методикам

Тип экстракта	Тип методики	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Экстракт №1	Методика 1	50	12,5	25
	Методика 2	12,5	3,13	25
Экстракт №2	Методика 1	50	6,25	3,13
	Методика 2	12,5	3,13	6,25
Экстракт №3	Методика 1	25	25	25
	Методика 2	50	6,25	25
Экстракт №4	Методика 1	25	6,25	6,25
	Методика 2	50	3,13	25

времени производили подсчет количества выросших колоний в сравнении с контрольным высевом и делали вывод о бактериостатическом или бактерицидном характере действия экстрактов очитков на микроорганизмы.

Результаты. В отношении *E. coli* антимикробное действие очитка большого (МПК 12,5 мг/мл) и очитка пурпурного (МПК 50 мг/мл) было незначительным. При этом МПК очищенных хлороформом экстрактов соответствовала таковой неочищенных экстрактов. Таким образом, очистка хлороформом на антибактериальную активность в отношении данного штамма не повлияла. Антимикробная активность экстрактов очитка большого и пурпурного в отношении *S. aureus* была более выражена. Диапазон МПК составил от 6,25 до 3,13 мг/мл, причем экстракт очитка пурпурного, очищенный хлороформом, продемонстрировал более высокую противостафилококковую активность, чем соответствующий экстракт без очистки (МПК 3,3 и 6,25 мг/мл соответственно). В отношении синегнойной палочки выраженную антимикробную активность продемонстрировал только экстракт очитка пурпурного, очищенного хлороформом: МПК составила 6,25 мг/мл. Его активность существенно превышала таковую неочищенного экстракта (25 мг/мл) (табл. 1).

Антимикотическая активность исследованных экстрактов не установлена (рост отмечался даже при максимальной концентрации экстрактов).

При учете характера действия исследуемых экстрактов получены следующие результаты: в отношении стафилококков экстракты обладали бактерицидным действием даже при МПК. В отношении кишечной палочки эффект носил бактериостатический характер. В отношении синегнойной палочки характер действия зависел от концентрации: МПК

оказывала бактериостатический эффект, а более высокие концентрации — бактерицидный.

Результаты сравнительного анализа антибактериального действия экстрактов, полученных по использовавшейся ранее (методика 1) и по вновь предложенной низкотемпературной методике (методика 2), представлены в табл. 2.

Обсуждение. В ходе исследования установлена антибактериальная активность спиртовых экстрактов очитка большого и очитка пурпурного, полученных путем низкотемпературной экстракции, в отношении всех тест-культур, за исключением грибов рода *Candida*. Водные растворы спиртового экстракта очитка большого обладают более выраженной антимикробной активностью, чем аналогичные экстракты очитка пурпурного. Антибактериальная активность водных растворов спиртовых экстрактов обоих видов очитков, очищенных хлороформом, была выше, чем неочищенных.

Из представленных в табл. 2 результатов сравнительного анализа двух методик экстракции видно, что полученные по низкотемпературной методике извлечения из очитка большого, очищенные и неочищенные хлороформом, обладали более высокой антимикробной активностью в отношении *E. coli* и *S. aureus*, чем извлечения, полученные по применявшейся ранее методике. В то же время их противосинегнойная активность не зависела от температурного фактора экстракции. Изменение способа экстракции повысило противостафилококковую активность извлечений очитка пурпурного, но несколько снизило антимикробную активность в отношении грамотрицательных бактерий.

Заключение. Спиртовые экстракты очитка большого и очитка пурпурного обладают антибактериальной активностью в отношении как грамположи-

тельного (*S. aureus*), так и грамотрицательных (*E. coli*, *P. aeruginosa*) микроорганизмов и не обладают противогрибковой активностью.

При сравнении антимикробной активности двух групп экстрактов, полученных по разным методикам, наблюдается более выраженное действие низкотемпературных извлечений в отношении стафилококков и сопоставимое в отношении грамотрицательных бактерий.

Установленная антимикробная активность (выраженный бактерицидный эффект в отношении стафилококков и бактериостатический эффект в отношении кишечной палочки и синегнойной палочки) свидетельствует о перспективности дальнейшего изучения механизмов и спектра антимикробного действия экстрактов очитков в отношении клинических штаммов микроорганизмов, которые могут обладать множественной лекарственной устойчивостью.

Конфликт интересов отсутствует.

Авторский вклад: концепция и дизайн исследования — С. В. Райкова, Н. А. Дурнова, В. В. Приходько; получение данных, анализ данных, интерпретация результатов — С. В. Райкова, В. В. Приходько, Е. К. Немолыева; написание статьи — В. В. Приходько, Н. А. Дурнова, В. О. Пластун; утверждение рукописи для публикации — Н. А. Дурнова.

References (Литература)

1. Tarakhovskiy JS, Kim JA, Abdasilov BS, et al. Flavonoids: biochemistry, biophysics, medicine. Pushino: Synchrobook, 2013; 310 p. (Тараховский Ю. С., Ким Ю. А., Абдасилов Б. С. и др. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино: Synchrobook, 2013; 310 с.)
2. Saleem M, Nazir M, Ali M S, Hussain H, Lee Y S, Riaz N, Jabbar A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates. *Nat Prod Rep* 2010; 27: 238–254.
3. Hemaiswarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine* 2008; 15: 639–652.
4. Plastun VO, Raikova SV, Durnova NA, Shub GM, Komarova EA. The research of antimicrobial activity of herbal extracts from stonecrops *Sedum maximum* (L.) Hoffm., *S. telephium* L. *Saratov Journal of Medical Scientific Research* 2013; 9 (4): 640–643. Russian (Пластун В. О., Райкова С. В., Дурнова Н. А., Шуб Г. М., Комарова Е. Э. Изучение анти-

микробной активности экстрактов очитков (*Sedum maximum* (L.) Hoffm., *S. telephium* L.). *Saratovskiy nauchno-meditsinskii zhurnal* 2013; 9 (4): 640–643.

5. Plastun VO, Komarova EA, Durnova NA, Kurchatova MN, Rodzaevskaya EB, Romanteeva JV. Wound healing activity of gel on the basis of an extract of *Sedum maximum* (L.) Hoffm. In: Actual issues and prospects of development of medicine: Proceedings of the conference. Omsk, 2014; p. 163–165. Russian (Пластун В. О., Комарова Е. Э., Дурнова Н. А., Курчатова М. Н., Родзаевская Е. Б., Романтеева Ю. В. Ранозаживляющая активность геля на основе экстракта очитка большого. В сб.: Актуальные вопросы и перспективы развития медицины: сб. науч. трудов. Омск, 2014; с. 163–165).

6. Kupriyanuk VA, Plastun VO. The antimicrobial activity of the extract of *Sedum telephium* L. *Bulletin of Medical Internet Conference* 2013; (3): 380. Russian (Куприянук В. А., Пластун В. О. Антимикробная активность экстракта очитка пурпурного *Sedum telephium* L. Бюллетень медицинских интернет-конференций 2013; (3): 380).

7. Plastun VO, Durnova NA, Raikova SV, Komarova EA. Prospects for the use of extracts from *Sedum telephium* L. in the development of drugs with antimicrobial activity. *Bulletin of the Botanical Garden of Saratov State University* 2015; (13): 70–75. Russian (Пластун В. О., Дурнова Н. А., Райкова С. В., Комарова Е. Э. Перспективы использования извлечения из очитка пурпурного (*Sedum telephium* L.) при разработке средств с антимикробной активностью. Бюллетень Ботанического сада Саратовского государственного университета 2015; (13): 70–75).

8. Maznev NI. Main medicinal plants. Moscow: RIPOЛ classic, 2006; 1056 p. Russian (Мазнев Н. И. Основные лекарственные растения. М.: РИПОЛ классик, 2006; 1056 с.)

9. Basaev BB, Cugkiyev BG, Grevcova SA. Chemical composition and economic-biological properties of some plant families Brassicaceae, Crassulaceae, Polygonaceae, Malvaceae and Poaceae in terms of North Ossetia — Alania. *Vladikavkaz: Gorsky State Agrarian University*, 2004; 111 p. Russian (Басаев Б. Б., Цугкиев Б. Г., Гревцова С. А. Химический состав и хозяйственно-биологические свойства некоторых растений семейства крестоцветные, толстянковые, гречишные, мальвовые и злаковые в условиях РСО — Алания. Владикавказ: Горский госагроуниверситет, 2004; 111 с.)

10. Kashin AS, Mashurchak NV, Ignatov VV. The quantitative content of flavonoids in the aerial part of *Helichrysum arenarium* (Asteraceae) in different habitats of the Saratov region. *Plant Resources* 2011; 47 (3): 73–79. Russian (Кашин А. С., Машурчак Н. В., Игнатов В. В. Количественное содержание флавоноидов в надземной части *Helichrysum arenarium* (Asteraceae) в различных местообитаниях Саратовской области. Растительные ресурсы 2011; 47 (3): 73–79).

УДК 617.713–089.843–003.93–092.9

Оригинальная статья

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКОГО НИОСОМАЛЬНОГО ГЕЛЯ «РЕГЕНЕРИН» В ЛЕЧЕНИИ ХИМИЧЕСКОГО ОЖОГА РОГОВИЦЫ

И. А. Базиков — ФГБОУ ВО «Ставропольский ГМУ» Минздрава России, заведующий кафедрой микробиологии, профессор, доктор медицинских наук; **В. С. Боташева** — ФГБОУ ВО «Ставропольский ГМУ» Минздрава России, заведующий лабораторией патоморфологии Центра персонализированной медицины, профессор, доктор медицинских наук; **Н. И. Калинин** — ФГБОУ ВО «Ставропольский ГМУ» Минздрава России, заочный аспирант кафедры микробиологии; **А. Н. Мальцев** — ФГБОУ ВО «Ставропольский ГМУ» Минздрава России, заведующий лабораторией биологически активных веществ, кандидат биологических наук; **Н. Ю. Костюкова** — ФГБОУ ВО «Ставропольский ГМУ» Минздрава России, ассистент кафедры глазных болезней с курсом ДПО, кандидат медицинских наук; **Д. А. Домениук** — ФГБОУ ВО «Ставропольский ГМУ» Минздрава России, доцент кафедры стоматологии общей практики и детской стоматологии, доктор медицинских наук.

EFFECTIVENESS EVALUATION OF APPLICATION OF NIOSOMAL OPHTHALMIC GEL “REGENERIN” IN THE TREATMENT OF CHEMICAL BURNS OF CORNEA

I. A. Bazikov — Stavropol State Medical University, Head of Department of Microbiology, Professor, Doctor of Medical Sciences; **V. S. Botasheva** — Stavropol State Medical University, Head of Laboratory of Pathological Morphology Center for Personalized Medicine, Professor, Doctor of Medical Sciences; **N. I. Kalinkina** — Stavropol State Medical University, Department of Microbiology, Post-graduate; **A. N. Maltsev** — Stavropol State Medical University, Head of Laboratory of Biologically Active Substances, Candidate of Biological Sciences; **N. Yu. Kostyukova** — Stavropol State Medical University, Department of Eye Diseases with DPO Course, Assistant, Candidate of Medical Sciences; **D. A. Domenyuk** — Stavropol State Medical University, Department of General Practice of Dentistry and Pediatric Dentistry, Assistant Professor, Doctor of Medical Sciences.

Дата поступления — 27.02.2017 г.

Дата принятия в печать — 15.05.2017 г.