

УДК: 615.322;615.281.9;615.214.2

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТЕНИЙ С ИЗВЕСТНЫМИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМИ СВОЙСТВАМИ

Зинаида Григорьевна Хабаева ^{1*}, Валентина Созыркоевна Гаппоева¹,
Диана Артуровна Марзоева ¹, Азамат Черменович Чивиев²,
Изета Вячеславовна Бугулова¹

¹ Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова,
362025, Республика Северная Осетия –Алания, г. Владикавказ,
ул. Ватутина, 44-46

² Северо-Осетинская государственная медицинская академия,
362019, Республика Северная Осетия –Алания, г. Владикавказ,
ул. Пушкинская, 40

E-mail: a.chiviev@mail.ru, zinahabaeva@mail.ru

Оценивали степень выраженности биологической активности водных и спиртовых экстрактов лекарственных растений на штаммы *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Использовали сырье лекарственных растений из аптечной сети и произрастающих в естественных растительных сообществах Северного Кавказа (горные районы РСО-Алания, ущелье Верхний Цей). Степень выраженности антибактериальной активности тестируемых веществ определяли стандартизированным методом Керби-Бауэра. Установлена высокая антибактериальная активность экстрактов тимьяна обыкновенного, чеснока посевного, мать-и-мачехи и эвкалипта прутовидного в отношении *Staphylococcus aureus*. Культура *Escherichia coli* оказалась устойчива практически ко всем тестируемым веществам (отсутствие задержки роста, либо малая чувствительность). Результаты сравнительного анализа антибактериальной активности тестируемых лекарственных растений выявили более значимые биологическую активность сырья лекарственных растений из природных растительных сообществ Северного Кавказа.

Ключевые слова: *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; экстракт; лекарственные растения

Введение

Одной из приоритетных задач современной фармакологической промышленности и медицины является создания новых и модификация известных фармакологических препаратов с направленной функциональной активностью. Наряду с синтезом химически активных соединений с выраженной биологической активностью, важную роль в создании современной фармацевтической индустрии, как одной из основ национальной безопасности страны, имеет направление, связанное с возможностью использования естественных лекарственных источников растительного и животного происхождения.

Имеется многовековой опыт использования лекарственных препаратов естественного происхождения в профилактике, коррекции и лечении различных патологических состояний как целостного организма, так и отдельных его систем.

Важную роль играет фармакотерапия в донозологическом периоде, обеспечивая возможность поддержания защитно-компенсаторных возможностей организма, создавая основу для выхода на новый уровень адаптационных возможностей организма.

Огромная база лекарственных соединений растительного происхождения с различной направленностью и характером действия, разным уровнем проявления функциональной активности является основой при подборе соединений с нужными свойствами и оказываемым терапевтическим эффектом.

Лекарственные препараты, изготовление которых основано на использовании растительного сырья, остаются в приоритете при формировании пула средств лечения и

профилактики различного рода заболеваний [2, 10]. Преимущество использования биологически активных соединений именно растительного происхождения определяется, прежде всего их меньшей токсичностью, мутагенностью, тератогенностью и т.д., они мало накапливаются в организме, требуют меньших материальных затрат и при этом обладают разнообразной функциональной активностью. Проблема аллергических реакций при применении фитопрепаратов связаны с индивидуальной чувствительностью, а ее решение требует принципиально иного методического подхода. Использование лекарственных растений возможно в нескольких направлениях, в том числе производство лекарственных препаратов на основе растительного сырья, выделение биологически активных веществ и применение их в чистом виде [8, 12]

Видовое разнообразие растений природной флоры Северного Кавказа, произрастающих в экологически чистых районах в условиях разной высотной зональности с разным уровнем неионизирующей радиации (УФ-излучение и характер аэризации) определили интерес к возможности использования этих растений в качестве сырья для получения фитопрепаратов с разной функциональной направленностью, включая антибактериальное и антиоксидантное действие [3].

Известно, что в основе многих воспалительных процессов лежит активность бактериальной флоры, оказывающих как прямое, так и косвенное действие на состояние организма. Данный факт определил необходимость изучения прямой антибактериальной активности лекарственного сырья *in vitro*. С этой целью проведено изучение биологической активности водных и спиртовых экстрактов лекарственных растений на штаммы *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали сырье 10 лекарственных официальных лекарственных растений с выраженными антибактериальными и противовоспалительными свойствами, приобретенными в аптечной сети, производство ЗАО «Красногорсклексредства» и четырех видов лекарственных растений, произрастающих в природных фитоценозах Северного Кавказа на высоте 1945 м над уровнем моря (с. Верхний Цей) в период массового цветения.

Применяли два метода приготовления экстрактов из исследуемых образцов растений: спиртовые экстракты (аптечное сырье) и водные экстракты (растения, произрастающие на территории Северной Осетии-Алании).

Для приготовления спиртовых экстрактов предварительно подготовленное сырье максимально измельчали. 25 г сырья помещали в 140 мл 70% этилового спирта и настаивали в течение 48 часов. После отстаивания вытяжку фильтровали в круглодонную колбу, затем отгоняли спирт на роторном испарителе.

В случае водных экстрактов настоев измельченный растительный материал помещали в подогретую в течение 15 минут фарфоровую инфундирку, заливали водой с температурой 25⁰С в объемном соотношении 1:10. Закрывали крышкой и настаивали на кипящей водяной бане при частом помешивании в течение 15 минут. Затем инфундирку снимали с водяной бани и охлаждали при комнатной температуре 45 минут. После этого процеживали в мерную колбу через двойной слой марли, отжимая остаток растительного материала, добавляли дистиллированную воду через отжатый растительный материал до требуемого объема вытяжки.

Оценку антибактериальной активности растений с известными противовоспалительными и противомикробными свойствами осуществляли на двух микробиологических моделях *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* стандартизированным методом Керби-Бауэра. Стандартные диски пропитывали

приготовленными вытяжками и помещали в чашки Петри с бактериальными культурами. Культивирование проводили на мясо-пептонном агаре (МПА). Активность растительных препаратов оценивали в соответствии с количественными показателями зоны задержки роста при трех стандартных разведениях: 1:1000, 1:10000, 1:100000.

Степень чувствительности микроорганизмов определяли путем измерения диаметра зоны задержки роста (малая – >14 мм, промежуточная (достаточная) – 15-25 мм, высокая – >25 мм).

Статистическую обработку данных осуществляли по критерию t-Стьюдента в программном обеспечении Exsel и SPSS. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Первоначально определяли биологическую активность в отношении *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* спиртовых экстрактов из аптечного сырья семи видов лекарственных растений (табл. 1).

Таблица 1

Антибактериальная активность спиртовых экстрактов аптечного лекарственного сырья в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli**

Лекарственное сырье	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	Диаметр зоны задержки роста, мм					
	1:10000	1:100000	1:1000000	1:10000	1:100000	1:1000000
	M±m			M±m		
Мать-и-Мачеха (<i>Tussilágo fárfara</i> L.)	25±4 n=5	23,3±3 n=5	22,8±2,1 n=5	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Эвкалипт прутовидный (<i>Eucalýptus viminális</i> L.)	15,5±2 n=5	15,9±2 n=5	16±1,7 n=5	В зоне задержки роста отмечены единичные клетки		
Липы цветки (<i>Tiliae flore</i>)	10,5±0,3 n=5	16,87±0,4 n=5	16±0,5 n=5	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Ромашка аптечная (<i>Matricaria chamomilla</i> L.)	14,5±0,4 n=3	13,83±0,3 n=5	11,7±0,6 n=5	6±0 n=3	8,67±0,6 n=3	6±0 n=3
Подорожник большой (<i>Plantago major</i> L.)	15,3±2,1 n=5	10±1,1 n=5	10,5±1,8 n=5	9,67±0,46 n=3	8,33±0,6 n=3	6±0 n=3
Чеснок посевной (<i>Allium sativum</i> L.)	25,4±1,5 n=5	30,2±0,8 n=5	36±3,5 n=5	24±2,3 n=5	29±2,1 n=5	33±2 n=5
Тимьян обыкновенный (<i>Thýmus vulgáris</i> L.)	25,8±1,9 n=5	31,4±3,9 n=5	35±2,9 n=5	25,4±1,1 n=5	26,6±1,7 n=5	29,8±1,6 n=5

Примечание: М – среднее арифметическое значение, m-ошибка репрезентативности, n – количество чашек Петри с бактериальными культурами, 6±0 – диаметр диска (отсутствие задержки роста)

Наиболее значимые значения зоны задержки роста *Staphylococcus aureus* наблюдали при использовании экстрактов из чеснока посевного и тимьяна обыкновенного. Для сырья этих видов растений выявлена высокая ($M > 24$ мм) антибактериальная активность. Значения зоны задержки роста при использовании экстракта из мать-и-мачехи составили от 22,8±2,1 до 25±4 мм, что соответствует средней чувствительности *Staphylococcus aureus* к данному препарату. Такая же степень антибактериальной активности была характерна для экстрактов из эвкалипта прутовидного. У цветов липы и подорожника большого активность варьировала от малой до средней чувствительности. У ромашки аптечной обнаружена низкая активность по отношению к *Staphylococcus aureus* (табл. 1).

Высокая активность растительных экстрактов по отношению к *Escherichia coli* была выявлена только при использовании чеснока посевного и тимьяна обыкновенного. Зона задержки роста при использовании экстрактов ромашки аптечной и подорожника большого была меньше 15 мм, что свидетельствует о малой чувствительности микроорганизмов к данным препаратам; обнаруживаемое во всех остальных случаях отсутствие зоны задержки роста говорит об устойчивости к ним *Escherichia coli*.

В последующих исследованиях был проведен сравнительный анализ антибактериальной активности аптечных препаратов и препаратов, полученных из растений наиболее распространенных в фитоценозах на территории РСО-Алания в Цейском ущелье (с. Верхний Цей). Результаты оценки зоны задержки роста при использовании аптечных препаратов из душицы обыкновенной позволили выявить наличие средней активности сырья душицы обыкновенной по отношению к *Staphylococcus aureus* (16,7-19,4 мм). Для остальных экстрактов была характерна средняя или низкая активность (табл. 2). Самые низкие значения зоны задержки роста определялись при использовании экстракта зверобоя продырявленного.

Таблица 2

Антибактериальная активность водных экстрактов лекарственных растений в отношении *Staphylococcus aureus*

Вид растения	Аптечное сырьё			Растительное сырьё, собранное в с. Верхний Цей		
	Диаметр зоны задержки роста, мм			Диаметр зоны задержки роста, мм		
	1:10000	1:100000	1:1000000	1:10000	1:100000	1:1000000
Стат. показ.	M±m			M±m		
Душица обыкновенная (<i>Origanum vulgare</i> L.)	16,17±0,23 ***	16,17±0,23 ***	19,42±0,28 ***	28,83±0,77 ***	30,42±0,82 ***	34,75±1,02 ***
Тимьян обыкновенный (<i>Thymus vulgaris</i> L.)	11,50±0,29 ***	14,17±0,4 ***	14,83±0,22 ***	16,33±0,54 ***	18±0,92 ***	18,08±1,02 ***
Цветы шиповника (<i>Rosa cinnamomea</i> L.)	12,92±0,25 ***	14,67±0,31 ***	17,17±0,27 ***	17,75±0,56 ***	20,58±0,34 ***	21,17±0,45 ***
Зверобой продырявленный (<i>Hypericum perforatum</i> L.)	7,92±0,15 ***	7,25±0,59 ***	9,50±0,35 ***	9,08±0,19 ***	9,5±0,22 ***	10,42±0,37 ***

Примечание: *-p≤0.05, **-p≤0.01, ***-p≤0.001

Антибактериальная активность экстрактов из сырья лекарственных растений из природных фитоценозов по отношению к *Staphylococcus aureus* была достоверно выше у всех протестированных препаратов. При этом самый низкий уровень функциональной активности был вновь характерен для зверобоя продырявленного (M >14 мм). Диаметр зоны задержки роста при использовании препаратов из тимьяна обыкновенного (16,33–18,08 мм) и цветов шиповника (17,75–21,17 мм) позволяет говорить о достаточной чувствительности к ним бактериальных клеток *Staphylococcus aureus*. Самая высокая активность (M >25 мм) по отношению к данному штамму бактерий была выявлена у душицы обыкновенной (табл. 3).

Полученные данные позволяют выделить несколько групп фактов. Во-первых, использованные в работе лекарственные растения, обладающие выраженными противовоспалительными, антимикробными, антиоксидантными свойствами [5, 9, 11], отличались различным проявлением степени выраженности антибактериальной

активности. Выявлены различия антибактериальной активности тестируемых растительных препаратов относительно двух видов штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. При этом у бактериальных клеток *Escherichia coli* практически во всех случаях проявлялась высокая устойчивость к фитопрепаратам. Значительная чувствительность относительно *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* обнаружена только при использовании водных экстрактов из тимьяна обыкновенного и чеснока посевного; у *Staphylococcus aureus* выявлена средняя бактериорезистентность по отношению к настойкам из листьев мать-и-мачехи и эвкалипта прутовидного.

Во-вторых, при использовании настоев из аптечных препаратов достаточная чувствительность *Staphylococcus aureus* была выявлена только у экстракта душицы обыкновенной. К остальным настоям бактериальные клетки были достаточно устойчивы, проявляя в большинстве случаев, среднюю (тимьян обыкновенного, цветы шиповника) или низкую (зверобой продырявленный) чувствительность к фитопрепарату в соответствии со значениями зоны задержки роста. В-третьих, при оценке антибактериальной активности настоев, приготовленных из растений, произрастающих на высоте 1945 м при сохранении общей тенденции проявления антибактериальной активности по отношению *Staphylococcus aureus*, меняется степень ее выраженности. Для всех используемых растительных настоев была характерна более выраженная функциональная активность. При этом, при использовании настоя из душицы обыкновенной наблюдалась высокая степень чувствительности бактерий к действующему растительному препарату ($M \geq 25$). Достоверно повышается чувствительность *Staphylococcus aureus* к настоям из тимьяна обыкновенного и цветов шиповника. В-четвертых, обнаружена разная степень выраженности антибактериальной активности растительного препарата в зависимости от способа его приготовления. Так, при использовании настойки тимьяна обыкновенного (аптечный препарат), размеры зоны задержки роста (25,8-35 мм) свидетельствовали о высокой чувствительности к фитопрепарату бактериальных клеток *Staphylococcus aureus*. В случае использования настоя из него в соответствии с показателями зоны задержки роста (11,5-14,8 мм) наблюдали проявления малой чувствительности.

Выводы

В соответствии с целью исследования в работе были использованы растения с антимикробным характером действия. Полученные фактические данные позволяют очертить круг вопросов, имеющих как частное значение касающиеся направленности и степени выраженности активности тестируемых лекарственных растений, так и общее, ориентированное на обсуждение биологической активности растений в зависимости от условий произрастания.

Следует выделить различные проявления степени выраженности антибактериальной активности тестируемых растений с выраженными противовоспалительными, антимикробными, антиоксидантными свойствами в соответствии с литературными источниками, как в зависимости от самих растений, используемых в качестве фитопрепаратов и способов их использования (водные и спиртовые экстракты), так и от типа бактериальных культур. Полученные данные позволили объединить растительные препараты в группы в соответствии с их активностью по отношению к указанным штаммам бактерий на: с высокой активностью – чеснок посевной, тимьян ползучий (*Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*), средней – мать-и-мачеха, эвкалипт прутовидный (*Staphylococcus aureus*) и малой – подорожник большой, ромашка аптечная (*Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*). Результаты проведенных исследований не дали однозначных данных относительно использования той или иной формы и способа приготовления фитопрепаратов, однако

во всех случаях спиртовые экстракты давали более значимые результаты. В особую группу выделены растительные препараты, при использовании которых не наблюдали зоны задержки роста. Такая дифференциация с одной стороны, была ожидаемой (грамположительные и грамотрицательные бактерии, чувствительные к разным группам антибиотиков), с другой стороны, достаточно неопределенной по своему проявлению. И дело касается отсутствия устойчивости бактерий к растительным препаратам, которые согласно литературным источникам, обладают высокой противовоспалительной и антибактериальной активностью. Можно предположить, что способы воздействия и проявления свойств растений с такого рода свойствами могут иметь как прямой характер (подавление роста бактерий), так и опосредованный. В последнем случае может иметь место повышение защитно-компенсаторных возможностей организмы и, как следствие, активное проявление неспецифического иммунитета в виде активности фагоцитов.

Сравнение результатов количественного анализа антибактериальной активности аптечного сырья и растений, собранных в горных районах позволяют говорить о существенно выраженном проявлении функциональной активности растений, произрастающих в природных фитоценозах. Такого рода данные определяют необходимость дальнейших исследований проявления биологических особенностей лекарственных растений в зависимости от климатогеографических условий их произрастания.

Список литературы

1. Бзыков О.Р., Марзоева З.Р., Хабаева З.Г., Гаппоева В.С., Оказова З.П., Скупневский С.В. Поведенческие реакции крыс в условиях воздействия отрицательных аэроионов с использованием различных поведенческих моделей // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. – 2022. – Т. 14. – No. 6. – С. 92-106. DOI: 10.12731/2658-6649-2022-14-6-92-106
2. Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Гананольский В.П., и др. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 56-63. DOI: 10.17816/RCF15256-63
3. Хабаева З.Г., Гаппоева В.С., Чивиев А.Ч. Исследование функциональной активности Melissa лекарственной (*Melissa officinalis* L.) с использованием поведенческих моделей // *Научно-теоретический журнал Известия Горского государственного аграрного университета*. – 2022. – № 4 (59). DOI: 10.54258/20701047_2022_59_4_207
4. Щербакова И.В., Крылатых В.Ю., Бардеништейн Л.М. Психофармакотерапия тревожных расстройств: современный взгляд на проблему // *Российский медицинский журнал*. – 2017. – Вып. 23. № 2. – С.107-112.
5. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes // *J Pharm Bioallied Sci*. – 2020. – Vol. 12. – № 1. – P. 1-10. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19. Epub 2020 Jan 29. PMID: 32801594; PMCID: PMC7398001.
6. Bykov Yu.V., Bekker R.A. History of the development of anxiolytics (A Literature Review) // *Psychiatry and psychopharmacotherapy*. – 2023. – Vol 3. – P. 16-32.
7. Gappoeva V., Khabayeva Z., Gagloeva A.R., Agayeva F., Bugulova I. Features of the functional activity of *Melissa officinalis* (*Melissa officinalis* L.) and medicinal mixture based on it // *BIO Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference “VAVILOV READINGS-2023” (VVRD 2023)*. – 2023. – Vol. 67. – P. 01011.

8. Kim S.H., Lim J.H. Traditional East Asian Herbal Medicine for Post-Stroke Insomnia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials // Int J Environ Res Public Health. – 2022. – Vol. 3. – № 19(3). – P. 1754. DOI: 10.3390/ijerph19031754. PMID: 35162777; PMCID: PMC8834856.

9. Nascimento G.F., Locatelli J., Freitas P.C., Silva G.L. Antimicrobial activity of plants on antibiotic resistance bacteria // Braz. J. Microbiol. – 2000. – Vol. 3. – P. 115-120

10. Sakkas H., Papadopoulou C. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils // J. Microbiol. Biotechnol. – 2017. – Vol. 27. – № 3. – P. 429-438.

11. Sarris J., Panossian A., Schweitzer I., Stough C., Scholey A. Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence // Eur Neuropsychopharmacol. – 2011. – Vol. 21. – № 12. – P. 841-60.

DOI: 10.1016/j.euroneuro.2011.04.002. Epub 2011 May 23. PMID: 21601431.

12. Woo C. S. J., Han Lau J. S., El-Nezami H. Chapter 10. Herbal Medicine: Toxicity and Recent Trends in Assessing Their Potential Toxic Effects // Advances in Botanical Research. – 2012. – Vol. 62. – P. 365-384.

Khabaeva Z.G., Gappoeva V.S., Marzoeva D.A., Chiviev A.Ch., Bugulova I.V. Analysis of the functional activity of plants with known antibacterial and neurotropic properties // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2024. – № 134-140

The degree of biological activity of aqueous and alcoholic extracts of medicinal plants on strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was assessed. The raw materials of medicinal plants from the pharmacy network and growing in natural plant communities of the North Caucasus (mountainous regions of the Republic of North Ossetia-Alania, Upper Tsey gorge) were used. The degree of antibacterial activity of the tested substances was determined by the standardized Kerby-Bauer method. High antibacterial activity of extracts of common thyme, common garlic, coltsfoot and rod-shaped eucalyptus against *Staphylococcus aureus* was established. The *Escherichia coli* culture turned out to be resistant to almost all tested substances (no growth retardation, or low sensitivity). The results of the comparative analysis of the antibacterial activity of the tested medicinal plants revealed more significant biological activity of raw materials of medicinal plants from natural plant communities of the North Caucasus.

Key words: *Staphylococcus aureus; Escherichia coli; extract, medicinal plants*