

Наталья Адамцевич,
аспирант кафедры биотехнологии
Белорусского государственного технологического университета;
natallia.adamtsevich@mail.ru

Валерий Болтовский,
профессор кафедры
химической переработки древесины и кафедры биотехнологии
Белорусского государственного технологического университета,
доктор технических наук, доцент;
v-boltovsky@mail.ru

Виктор Леонтьев,
завкафедрой биотехнологии Белорусского государственного
технологического университета,
кандидат химических наук, доцент;
leontiev@belstu.by

Владимир Титок,
директор Центрального ботанического сада НАН Беларуси,
член-корреспондент;
V.Titok@cbg.org.by

ОЦЕНКА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТКОВ БЕССМЕРТНИКА И ЛИСТЬЕВ ВОРОБЕЙНИКА



Аннотация. Приведена оценка антимикробной активности экстрактов цветков бессмертника песчаного и листьев воробейника лекарственного по отношению к грамположительным (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), грамотрицательным (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) патогенным бактериям и дрожжеподобным грибам (*Candida albicans*). Установлено, что первый обладает антимикробным действием только по отношению к грамположительным бактериям, а ко второму все виды исследуемых микроорганизмов не чувствительны.

Ключевые слова: бессмертник песчаный, воробейник лекарственный, экстракт, флавоноиды, антимикробная активность.

Для цитирования: Адамцевич Н., Болтовский В., Леонтьев В., Титок В. Оценка антимикробной активности экстрактов цветков бессмертника и листьев воробейника // Наука и инновации. 2021. №11. С. 64–68. <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2021-11-64-68>

Растения – важнейший источник биологически активных веществ (БАВ), находящихся широкое применение в медицине и обладающих разнообразной фармакологической активностью [1–3]. Сегодня все более значимым становится поиск новых безопасных антимикробных средств ввиду трудностей в лечении инфекционных заболева-



ний, вызванных резистентными к антибиотикам штаммами микроорганизмов [4, 5]. По мнению Всемирной организации здравоохранения, одними из наиболее опасных бактерий такого рода являются синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) и золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*), которые постоянно мутируют и приспосабливаются к антибиотикам [6].

Среди БАВ растительного происхождения широким спектром фармакологических свойств обладают флавоноиды. На их основе разработаны различные лекарственные препараты: противовоспалительные, гепатопротекторные, желчегонные, иммуномодулирующие и другие, а также медикаменты с антимикробным действием [1, 7–10].

Лекарственное растительное сырье, богатое флавоноидами, представляют собой цветки бессмертника песчаного (*Helichrysum arenari flores*). Качество препаратов на его основе регламентируют фармакопеи Республики Беларусь (ГФ Беларуси), Российской Федерации, Украины, Республики Казахстан, Польши и других стран [11–13]. Вытяжка из цветков данного растения обладает антиоксидантными [14, 15], антибактериальными [14, 16], цитотоксическими [17], противотуберкулезными [18] свойствами, которые исследователи связывают с наличием флавоноидов [19–21]. Так, при изучении химического состава некоторых видов лекарственных растений из коллекции Центрального ботанического

сада Национальной академии наук Беларуси в экстракте цветков бессмертника песчаного обнаружен кемпферол-3- β -D-гликопиранозид [22] – флавоноид, обладающий ранозаживляющим [23] и антимикробным [24] действием.

В качестве бактерицидного и ранозаживляющего средства известен воробейник лекарственный (*Lithospermum officinale L.*), который не является фармакопейным растением, однако с давних времен используется в народной медицине [25]. В экстракте его листьев обнаружен изокверцитрин (гликозид кверцетина) [22] – один из ключевых флавоноидов, способствующих регенерации тканей [26, 27]. Таким образом, воробейник лекарственный также представляет интерес для медицинской практики.

Цель данной работы – сравнительная оценка антимикробной активности экстрактов цветков бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium L.*) и листьев воробейника лекарственного (*Lithospermum officinale L.*).

Для их получения воздушно-сухие цветки бессмертника песчаного (влажность 9,19%) измельчали до фракции 1–2 мм, листья воробейника лекарственного (влажность 9,95%) – до фракции 2–3 мм и экстрагировали 50%-ным этиловым спиртом в течение 40 мин. при температуре 65–70 °С. Соотношение массы сырья к объему экстрагента для цветков бессмертника песчаного составляло 1:50, для листьев воробейника лекарственного – 1:20. Полученные водно-спиртовые

экстракты упаривали на роторном испарителе при пониженном давлении и температуре 40 °С.

Очистку экстрактов от балластных веществ выполняли методом жидкость-жидкостной экстракции. Сухой экстракт растворяли в теплой (60 °С) дистиллированной воде, добавляли хлороформ в объемном соотношении к воде 1:5 и хорошо встряхивали. С помощью делительной воронки отделяли органическую фазу от водной. Процедуру повторяли еще дважды. Далее водную часть упаривали досуха на роторном испарителе при пониженном давлении и температуре 50–55 °С.

Навески сухих экстрактов растворяли в 50%-ном этиловом спирте и готовили растворы с концентрациями 5, 10, 25 и 50 мг/мл.

Регистрировали электронные спектры растворов экстрактов с концентрацией 5 мг/мл в диапазоне длин волн 200–900 нм на спектрофотометре SPECORD200 (Analytik Jena, Германия).

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) экстрактов проводили на пластинках TLC Silica gel 60 (MERCK, Германия). В качестве подвижной фазы для установления качественного состава использовали систему растворителей «этилацетат – муравьиная кислота – вода» (70:10:20). Растворы экстрактов с концентрацией 5 мг/мл наносили на пластинки в виде пятен диаметром 3–4 мм, которые проявляли в УФ-камере (Spectroline Model CM-10, США) при длинах волн 365 и 254 нм. Для качественного определения флавоноидов в экстрактах лекарственных растений применяли стандартные растворы коммерческих препаратов изокверцитрина (Sigma, Германия)

и кемпферол-3-β-D-глюкопиранозида (Sigma, Франция). Идентификацию веществ на хроматограммах осуществляли по характерному цвету зон и величинам коэффициента подвижности (Rf).

Антимикробную активность экстрактов изучали методом диффузии в агар. В качестве тест-микроорганизмов использовали *Bacillus subtilis* 168, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* и дрожжеподобные грибы – *Candida albicans* ATCC 10231 из музея микроорганизмов кафедры биотехнологии Белорусского государственного технологического университета. Подготовку питательных сред и получение суточных культур микроорганизмов выполняли согласно методике, приведенной в ОФС 2.6.1 «Стерильность» (ГФ Беларуси). На засеянных суточными культурами микроорганизмов (метод поверхностного посева) питательных средах стерильно делали лунки диаметром 8 мм, в которые вносили 50 мкл раствора экстракта соответствующей концентрации. В качестве контрольного образца использовали 50%-ный этиловый спирт. Оценку антимикробных свойств осуществляли по диаметру зоны ингибирования роста микроорганизмов. Эксперимент выполняли в трехкратной повторности. Для статистической обработки полученных результатов использовали программу Microsoft Office Excel 2007.

Диаметр зоны менее 10 мм указывал на то, что микроорганизмы не чувствительны к исследуемому образцу; 10–15 мм – на низкую антимикробную активность; 15–25 мм – на среднюю антимикробную активность; более 25 мм – на высокую чувствительность.

Тест-штамм	Концентрация экстракта, мг/мл							
	Экстракт цветков бессмертника песчаного				Экстракт листьев воробейника лекарственного			
	5	10	25	50	5	10	25	50
<i>S. aureus</i>	++	++	+++	+++	-	-	-	+
<i>B. subtilis</i>	++	++	+++	+++	-	-	-	+
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-

Таблица. Оценка антимикробной активности экстрактов соцветий бессмертника песчаного и листьев воробейника лекарственного

Примечание: «-» – антимикробная активность не выявлена; «+» – низкая антимикробная активность; «++» – средняя антимикробная активность; «+++» – высокая антимикробная активность.

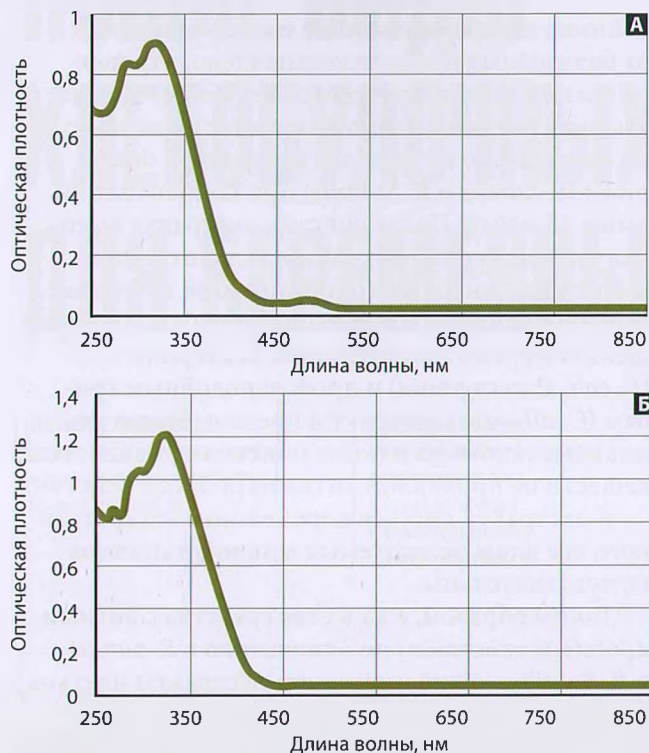


Рис. 1. Электронные спектры экстрактов цветков бессмертника песчаного: А – до очистки; Б – после очистки

Результаты исследования, приведенные в таблице, показали, что экстракт цветков бессмертника песчаного при концентрации выше 25 мг/мл обладает высокой антимикробной активностью только по отношению к грамположительным бактериям (*S. aureus* и *B. subtilis*). Вокруг лунок с экстрактом листьев воробейника при концентрациях ниже 50 мг/мл зона отсутствия роста бактерий составляла менее 10 мм, следовательно, *S. aureus* и *B. subtilis* слабо чувствительны к данному экстракту.

По отношению к грамотрицательным бактериям (*E. coli*, *P. aeruginosa*) и дрожжеподобным грибам (*C. albicans*) экстракты цветков бессмертника песчаного и листьев воробейника лекарственного не проявляли антимикробного действия.

Таким образом, антимикробной активностью обладает только экстракт цветков бессмертника песчаного по отношению к грамположительным бактериям. Водно-спиртовые экстракты из растительного сырья, как правило, совместно с действующими соединениями содержат разнообразные по структуре и свойствам сопутствующие и балластные компоненты (смолистые веще-

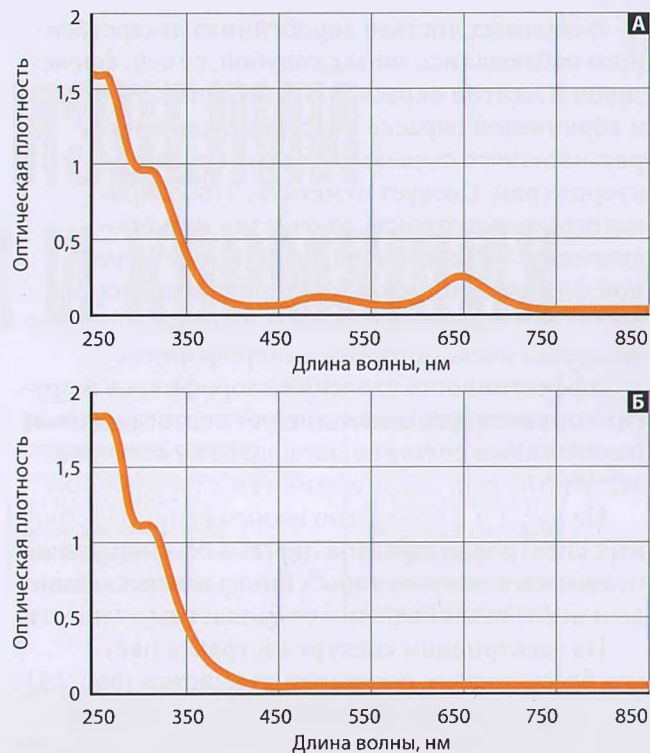


Рис. 2. Электронные спектры экстрактов листьев воробейника лекарственного: А – до очистки; Б – после очистки

ства, пигменты слизи (антоцианы, каротины, хлорофиллы), стерины и др.), которые разлагаются, придавая экстрактам нехарактерный запах и внешний вид, и могут оказывать неблагоприятное воздействие на свойства активных веществ.

С целью получения препаратов с более высоким содержанием флавоноидов и исключения отрицательного влияния сопутствующих соединений проведена очистка экстрактов от балластных веществ, в том числе хлорофиллов, методом жидкость-жидкостной экстракции.

Качественный анализ экстрактов проводили методом ТСХ, в результате которого при проявлении хроматограмм в УФ-свете в образцах цветков бессмертника песчаного наблюдались зоны с желтой и желто-зеленой окраской, характерной для флавонолов; желто-коричневой, свойственной для флавонов, флаванол-3-гликозидов, флаванонов и халконов; голубой и фиолетовой – для фенольных кислот. По совпадению окраски и величины $R_f=0,48$ со стандартным образцом в экстрактах цветков бессмертника песчаного до и после очистки идентифицирован кемпферол-3- β -D-глюкопиранозид.

В образцах листьев воробейника лекарственного наблюдались зоны с голубой, синей, фиолетовой и желтой окраской. По величине $R_f=0,43$ и коричневой окраске в экстрактах данного растительного сырья идентифицирован изокверцитрин. Следует отметить, что на хроматограмме экстракта до очистки при проявлении в УФ-свете наблюдалась зона с красной флуоресценцией, характерной для хлорофилла, которая отсутствовала на хроматограмме экстракта после обработки хлороформом.

Эффективность удаления хлорофиллов и других сопутствующих соединений подтверждается изменениями спектров поглощения растворов экстрактов до и после обработки хлороформом.

На рис. 1 и 2 приведено изображение электронных спектров экстрактов цветков бессмертника песчаного и листьев воробейника лекарственного до и после освобождения от балластных веществ.

На электронном спектре экстракта цветков бессмертника песчаного до очистки (рис. 1А) наблюдается максимум поглощения при длине волны ≈ 480 нм, который, предположительно, соответствует каротиноидам. После обработки экстракта хлороформом на электронном спектре (рис. 1Б) данный максимум отсутствует, что указывает на удаление каротиноидов из экстракта.

Сопоставление электронных спектров экстрактов листьев воробейника лекарственного до и после очистки (рис. 2) свидетельствует об удалении хлорофилла и его производных, для которых характерен максимум поглощения в диапазоне длин волн 660–680 нм.

Оценка антимикробной активности экстрактов после очистки показала, что экстракт цветков бессмертника песчаного по-прежнему обладал антимикробным действием только по отношению к грамположительным бактериям, однако при более низких концентрациях (от 10 мг/мл). По отношению к грамотрицательным бактериям и дрожжеподобным грибам экстракты после очистки не проявляли антимикробной активности.

К экстракту листьев воробейника лекарственного все виды исследуемых микроорганизмов не чувствительны. Можно предположить, что флавоноиды и другие фенольные соединения, содержащиеся в листьях этого растения, в том числе изокверцитрин, не обладают антимикробными свойствами.

В результате сравнительной оценки антимикробной активности экстрактов цветков бессмертника песчаного и листьев воро-

бейника лекарственного до и после очистки от балластных веществ установлено, что первый из них (экстракт из бессмертника) обладает высокой антимикробной активностью только по отношению к грамположительным бактериям (*S. aureus* и *B. Subtilis*) при концентрации выше 25 мг/мл. После очистки экстракта высокая антимикробная активность по отношению к указанным микроорганизмам наблюдалась при концентрации выше 10 мг/мл. По отношению к грамотрицательным бактериям (*E. coli*, *P. aeruginosa*) и дрожжеподобным грибам (*C. albicans*) экстракты цветков бессмертника песчаного до и после очистки от балластных веществ не проявляли антимикробного действия.

К экстракту листьев воробейника лекарственного все виды исследуемых микроорганизмов не чувствительны.

Таким образом, в качестве средства с антимикробным действием по отношению к *S. aureus* и *B. Subtilis* можно применять экстракты цветков бессмертника песчаного. ■

■ **Summary.** Evaluation of the antimicrobial activity of extracts of flowers of *Helichrysum* and Sparrow leaves Natalya Adamtseвич, Postgraduate Student, Department of Biotechnology, Belarusian State Technological University Valery Baltousky, Professor of the Department of Chemical Processing of Wood and the Department of Biotechnology of the Belarusian State Technological University, Doctor of Technical Sciences, Associate Professor Viktor Lyavontsyev, Head of the Department of Biotechnology, Belarusian State Technological University, Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor Uladimir Tsitok, Director of the Central Botanical Garden of the National Academy of Sciences of Belarus, Corresponding Member Summary. The article provides an assessment of the antimicrobial activity of the extracts of the everlasting flowers and the leaves of the littlewale against gram-positive (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) pathogenic bacteria and yeast-like fungi (*Candida albicans*). It has been established that the extract of the flowers of the everlasting has an antimicrobial action only against gram-positive bacteria. All types of the studied microorganisms are not sensitive to the extract of the leaves of the littlewale.

■ **Keywords:** everlasting, littlewale, extract, flavonoids, antimicrobial activity.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2021-11-64-68>

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдралилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. – Пушчино, 2013.
2. Brown J.E., Andersen M., Markham K.R. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. – Boca Raton, 2006.
3. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. – Самара, 2012.

Полный список использованных источников размещен

 [SEE http://innosfera.by/2021/11/everlasting](http://innosfera.by/2021/11/everlasting)

Статья поступила в редакцию 05.05.2021