

Кустова Т.С., Платаева А.К.,  
Заворотная М.В.,  
Карпенюк Т.А., Гончарова А.В.

**Противомикробные  
свойства экстрактов *Vexibia  
alopescuroides***

Методом серийных разведений в бульоне с использованием штаммов патогенных и условно патогенных микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, Methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 исследована антимикробная активность суммарных дихлорметанового и спиртового экстрактов, выделенных из корней *Vexibia alopescuroides*. Образцы собраны в фазу цветения в Алматинской области. Выявлена высокая антибактериальная активность дихлорметанового экстракта (концентрация полумаксимального ингибирования 3 мкг/мл) по отношению к *Staphylococcus aureus* и Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* и антагонистическое действие биологически активных веществ в его составе по отношению к дрожжеподобным грибам *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030.

**Ключевые слова:** суммарные экстракты, фракция, антимикробная активность.

Kustova T.S., Platayeva A.K.,  
Zavorotnaya M.V.,  
Karpenyuk T.A., Goncharova A.V.

**Antimicrobial properties  
of extracts *Vexibia alopescuroides***

Microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, Methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 was used to determine the antimicrobial activity of dichloromethane extracts and alcohol by serial dilution. The extracts were isolated from roots of *Vexibia alopescuroides*. Samples were collected in the flowering phase in the Almaty region. High antibacterial activity of the extract dichloromethane (concentration of half-maximal inhibition of 3 mg / ml) against *Staphylococcus aureus* and methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* and the antagonistic effect of biologically active substances in its composition in relation to the yeast *Candida Albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030.

**Key words:** total extracts, fraction, antimicrobial activity.

Кустова Т.С., Платаева А.К.,  
Заворотная М.В.,  
Карпенюк Т.А., Гончарова А.В.

***Vexibia alopescuroides*  
экстрактың антимикробтық  
қасиеттері**

*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, Methicillin-resistant *S. Aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 патогендік және шартты патогендік микроорганизм штамдарының сериялық сорпада еріту әдісімен *Vexibia alopescuroides* тамырларынан бөлініп алынған дихлорметанды және спирттік экстрактылар жиынтығының антимикробтық қасиеттері зерттелген. Үлгілер гүлдеу сатысында Алматы облысында жиналған. *Staphylococcus aureus* және Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* қарсы дихлорметанды экстрактың жоғары антимикробтық белсенділігі (жартымаксималды тежеуші концентрациясы 3 мкг/мл) және оның құрамындағы биологиялық белсенді заттардың ашытқыға ұқсас *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 саңырауқұлақтарына қарсы антагонистік әсері айқындалды.

**Түйін сөздер:** экстракттар жиынтығы, фракция, антимикробтық белсенділік.

## **ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ *VEXIBIA* *ALOPECUROIDES***

### **Введение**

В последнее время растет интерес к исследованию дикорастущих лекарственных растений, в том числе рода *Sophora* (*Vexibia*). По всему миру насчитывается более 52 видов этого рода, большинство из них распространены в Азии. Около 15 видов данного рода широко используется в традиционной Китайской медицине, что в последние десятилетия привело к быстрому росту информации по активным веществам и различным фармакологическим, лечебным свойствам. Некоторые фитохимические исследования *in vitro* и *in vivo*, а также эксперименты в клинической практике показали, что софора обладает различными фармакологическими свойствами, в том числе антиоксидантным, противоопухолевым, антинеопластическим, противомикробным, противовирусным, жаропонижающим, кардиотоническим, противовоспалительным, мочегонным а также широко используется в лечении кожных заболеваний, таких как экзема, кольпиты и псориаз [1-4].

Главными активными химическими компонентами софоры были признаны алкалоиды, а также флавоноиды, изофлавоноиды, флавоны, флавонолы и их гликозиды, сапонины, тритерпеновые гликозиды, фосфолипиды, полисахариды, и жирные кислоты [5-7].

Знание биологически активных соединений *Vexibia alopecuroides* и их активности, подбор комплекса БАВ из этого и других растений Казахстана, обладающих синергическим действием, может быть особенно необходимо при проектировании новых безопасных и эффективных составовнутрицевтических и фитотерапевтических препаратов, обеспечивающих повышенный противомикробный, ранозаживляющий, противовоспалительный эффекты.

### **Материалы и методы**

Объектом исследования являлось дикорастущее растение флоры Казахстана *Vexibia alopecuroides* (Fabaceae). Образцы были собраны в фазу цветения в Алматинской области (5-9 км от поселка Узун-Агаш). Идентификация растения проводилась

в сравнении с коллекционным материалом Гербария Института ботаники и фитоинтродукции МОН РК и по определителям [8, 9].

Суммарный экстракт получали последовательной двухступенчатой экстракцией (дихлорметан, спирт). Корни (100 г) *Vexibia alopecuroides* экстрагировали с помощью дихлорметана при комнатной температуре 24 часа, количество полученного экстракта составило 2,2 г. Высушенный жмых подвергали повторной экстракции 95% этанолом. Количество полученного экстракта составило 8,7 г после выпаривания растворителя на роторном испарителе фирмы Cole-Parmer.

Для поиска соединений с антимикробной активностью часть суммарного экстракта (1,2 г) было разделено с помощью колоночной хроматографии на приборе Biotage Isolera, используя 100 г SNAP картридж (40-63 мкм, 60 Å, 39 x 157 мм) при потоке элюентов 40 мл/мин используя гексан и изопропанол, при ступенчатом градиенте (первая ступень в соотношении 0:100 (v/v), 2400 мл, вторая ступень промывка метанолом 385 мл). Порции фракции в объеме 25 мл собирали в пробирки 16x150 мм. Выход компонентов фракций контролировали при длине волны 254 нм и 220 нм. Было собрано 113 фракции по 22 мл каждая. Все фракции были дополнительно проанализированы при помощи тонкослойной хроматографии с использованием смеси гексан/изопропанол в качестве растворителя (75:25) на Analtech Silica Gel GF 250 мкм пластине. Хроматографически одинаковые фракции объединяли, концентрировали досуха и подвергали повторному хроматографированию.

В итоге было собрано 10 фракций (А – J), которые использовали для исследования их антимикробного потенциала.

Антимикробную активность суммарных экстрактов и их фракций определяли методом серийных разведений в бульоне [10,11] с использованием следующих штаммов патогенных и условно патогенных микроорганизмов: бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, дрожжеподобные грибы *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030. Препаратами сравнения были антибиотики «Ципрофлоксацин» и «Амфотерицин В».

### Результаты и их обсуждение

Первичный скрининг на антимикробную активность проводили для этанольного и дихлорметанового экстрактов в двух повторностях. Если исследуемый образец демонстрировал зону ингибирования роста тест-объектов, превышающую 50%, то данный экстракт повторно исследовался для установления концентрации полумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ). Полученные данные (таблица 1) показали, что дихлорметановый экстракт, выделенный из корней *Vexibia alopecuroides* обладал высокой активностью только против бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC 43300, ингибирование роста составило 99-100%, по отношению к другим штаммам активность не наблюдалась.

Таблица 1 – Первичный скрининг экстрактов *Vexibia alopecuroides* на антимикробную активность

Исследуемый экстракт из корней <i>Vexibia alopecuroides</i>	Ингибирование роста, % (исследуемая концентрация образца 50 мкг / мл)					
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>	<i>S. aureus</i>	MRS	<i>P. aeruginosa</i>
этанол	16	0	0	0	0	0
дихлорметан	16	2	0	99	100	0

Для подтверждения полученных данных, провели повторное исследование антимикробной активности экстрактов для установления концентрации полумаксимального ингибирования ( $IC_{50}$ ).

Результаты вторичного скрининга (таблица 2) показали, что суммарный дихлорметановый экстракт из корней *Vexibia alopecuroides*,

показал хорошую активность по отношению к *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ( $IC_{50}$  составила 3 мкг / мл) и *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC 43300 ( $IC_{50}$  составила 2,9 мкг / мл).

Для идентификации и поиска, биологически активных веществ суммарного экстракта *Vexibia alopecuroides*, выделенную из корней *Vexibia alopecuroides* субстанцию разделили хромато-

рафированием на колонке на фракции, которые были исследованы на антибактериальную и противогрибковую активности (таблица 2).

Среди 10 фракций, только фракции D, F и I обладали антимикробными свойствами по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Methicillin-resistant S. aureus* (<0,8 мкг/мл). Фракции E и H

также обладали антимикробной активностью, так например фракция H обладала высокой антибактериальной активностью по отношению к *Staphylococcus aureus* (< 0,8 мкг / мл) и *Methicillin-resistant S. aureus* (< 0,8 мкг / мл), а также антигрибковой активностью по отношению к трем исследуемым штаммам *Candida*.

**Таблица 2** – Скрининг дихлорметанового экстракта *Vexibia alopecuroides* и его фракций на антимикробную активность

Исследуемый экстракт	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida albicans</i>
	IC <sub>50</sub> *(мкг/мл)**					
Суммарный экстракт						
<i>Vexibia alopecuroides</i> (корни) дихлорметан	3,1±1,7	2,9±0,2	>200	>200	>200	>200
Фракции						
Фракция А	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция В	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция С	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция D	<0,8	<0,8	>20	>20	>20	>20
Фракция E	<0,8	<0,8	>20	15,1±2,1	>20	>20
Фракция F	1,3±0,4	1,7±0,7	>20	>20	>20	>20
Фракция G	4,7±0,5	5,3±1,3	>20	>20	>20	>20
Фракция H	<0,8	<0,8	>20	3,8±0,6	17,7±4,2	4,5±0,5
Фракция I	1,7±0,4	<0,8	>20	>20	>20	>20
Фракция J	11,1±0,8	6,5±0,9	>20	>20	>20	>20
Ципрофлоксацин (контроль)	0,10±0,02	0,10±0,01	0,10±0,01	-	-	-
Амфотерицин В (контроль)	-	-	-	0,14±0,03	0,55±0,05	0,28±0,07
*IC <sub>50</sub> , концентрация полумаксимального ингибирования						
** в таблице представлено среднее значение ± стандартное отклонение (n=3)						

Данные по антимикробной активности суммарного экстракта *Vexibia alopecuroides* и после фракционирования говорят об антагонистическом действии биологически активных веществ в составе полученного экстракта, в связи с тем, что наблюдается отсутствие активности суммарного экстракта по отношению к грибам рода *Candida*,

но данная активность проявляется у некоторых фракций после их разделения.

Таким образом, полученные данные по антимикробной активности представляют большой интерес для дальнейших исследований по идентификации биологически активных веществ суммарного экстракта, выделенного из корней *Vexibia alopecuroides*.

## Литература

- 1 Tian A., Xu T., Liu K., Zou Q., Yan X. Anti-helicobacter pylori effect of total alkaloids of sophora alopecuroides in vivo // Chinese Medical Journal.-2014.-Vol. 127(13).-P. 2484-91.
- 2 Lu X., Lin B., Tang J.G., Cao Z., Hu Y. Study on the inhibitory effect of total alkaloids of Sophora alopecuroides on osteosarcoma cell growth // African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.-2013. -Vol.11, N 1.-P. 172-5.
- 3 Liu M., Liu X.Y., Cheng J.F. Advance in the pharmacological research on matrine // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. – 2003. –Vol.28. – P. 801-804.
- 4 Zhang Y.F., Wang S.Z., Li Y.Y., Xiao Z.Y., Hu Z.L., Zhang J.P. Sophocarpine and marine inhibit the production of TNF and IL-6 in murine macrophages and prevent cachexia-related symptoms induced by colon 26 adenocarcinoma in mice // International Immunopharmacology. – 2008. –Vol. 8. – P. 1767-1772.
- 5 Lin W., Zhang J.P., Hu Z.L., Qian D.H. Inhibitory effect of matrine on lipopolysacchride induced tumor necrosis factor and interleukin-6 production from rat Kupffer cells // Yao Xue Xue Bao. – 1997. – Vol.32. –P. 93-96.
- 6 Xing N.L., Sha N., Yan H.X., Pang X.Y., Guan S.H., Yang M., Hua H.M., Wu L.J., Guo D.A. Isoprenylated flavonoids from the roots of Sophora tonkinensis // Phytochemistry Letters. – 2008. – Vol.1. – P.163-167.
- 7 Bach M.K., Brashler J.R. Inhibition of IgE and compound 48/80-induced histamine release by lectins // Immunology. – 1975. – Vol.29. – P. 371-386.
- 8 Павлов, Н.В. Флора Казахстана. – Алма-Ата: Академия наук Казахской ССР, 1966. – Т.9
- 9 Голоскоков В.Р. Иллюстрированный определитель растений Казахстана. – Алма-Ата: Наука, 1969. -Т.1. – 243 с.
- 10 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (Wayne, Pa.): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard – Second Edition. Document M27-A2.-2002. –P.22.
- 11 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, approved Standard – Seventh edition. Document M7 – A7. -2006. – P.26.

## References

- 1 Tian A., Xu T., Liu K., Zou Q., Yan X. Anti-helicobacter pylori effect of total alkaloids of sophora alopecuroides in vivo // Chinese Medical Journal.-2014.-Vol. 127(13).-P. 2484-91.
- 2 Lu X., Lin B., Tang J.G., Cao Z., Hu Y. Study on the inhibitory effect of total alkaloids of Sophora alopecuroides on osteosarcoma cell growth // African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.-2013. -Vol.11, N 1.-P. 172-5.
- 3 Liu M., Liu X.Y., Cheng J.F. Advance in the pharmacological research on matrine // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. – 2003. –Vol.28. – P. 801-804.
- 4 Zhang Y.F., Wang S.Z., Li Y.Y., Xiao Z.Y., Hu Z.L., Zhang J.P. Sophocarpine and marine inhibit the production of TNF and IL-6 in murine macrophages and prevent cachexia-related symptoms induced by colon 26 adenocarcinoma in mice // International Immunopharmacology. – 2008. –Vol. 8. – P. 1767-1772.
- 5 Lin W., Zhang J.P., Hu Z.L., Qian D.H. Inhibitory effect of matrine on lipopolysacchride induced tumor necrosis factor and interleukin-6 production from rat Kupffer cells // Yao Xue Xue Bao. – 1997. – Vol.32. –P. 93-96.
- 6 Xing N.L., Sha N., Yan H.X., Pang X.Y., Guan S.H., Yang M., Hua H.M., Wu L.J., Guo D.A. Isoprenylated flavonoids from the roots of Sophora tonkinensis // Phytochemistry Letters. – 2008. – Vol.1. – P.163-167.
- 7 Bach M.K., Brashler J.R. Inhibition of IgE and compound 48/80-induced histamine release by lectins // Immunology. – 1975. – Vol.29. – P. 371-386.
- 8 Pavlov, N.V. Flora Kazahstana. – Alma-Ata: Akademija nauk Kazahskoj SSR, 1966. – Т.9
- 9 Goloskokov V.R. Illjustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazahstana. – Alma-Ata: Nauka, 1969. -Т.1. – 243 s.
- 10 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (Wayne, Pa.): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard – Second Edition. Document M27-A2.-2002. –P.22.
- 11 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, approved Standard – Seventh edition. Document M7 – A7. -2006. – P.26.