

2-бөлім
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Раздел 2
БИОТЕХНОЛОГИЯ

Section 2
BIOTECHNOLOGY

**Кустова Т.С.¹, Самир А.Р.², Карпенюк Т.А.³, Гончарова А.В.⁴,
Фаварисова Н.Р.⁵, Туфуминова Я.С.⁶, Кенешева С.Т.⁷**

¹PhD, НС Научно-исследовательского института проблем биологии и биотехнологии,
e-mail: kus_talya@yahoo.com

²профессор Национального центра исследований натуральных продуктов, профессор фармакогнозии
университета Миссисипи, США, г. Юниверсити, e-mail: sross@olemiss.edu

³доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии, e-mail: Tatyana.Karpenyuk@kaznu.kz

⁴кандидат биологических наук, доцент кафедры биотехнологии, e-mail: Alla.Goncharova@kaznu.kz

⁵студент бакалавриата кафедры биотехнологии, e-mail: nasima97@bk.ru

⁶PhD, НС Научно-исследовательского института проблем биологии и биотехнологии,
e-mail: yanatufuminova@gmail.com

⁷студент PhD-докторантуры кафедры биотехнологии, e-mail: Sabinakenesheva@gmail.com

^{1,3,4,5,6,7}Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТОВ
ИЗ КОРНЕЙ *VEXIBIA ALOPECUROIDES* И *SALVIA DESERTA***

Биологически активные соединения (БАС) растений представлены разнообразными классами органических соединений и являются перспективным сырьем для создания лечебно-профилактических средств. На территории Республики Казахстан произрастает более 6000 видов растений, способных стать при надлежащем исследовании сырьевой базой для создания и производства новых оригинальных отечественных фитопрепаратов. Поэтому испытание биологически активных соединений из дикорастущих растений Казахстана представляет собой своевременную и перспективную задачу.

Установлено, что в корнях двух дикорастущих растений флоры Казахстана – *Salvia deserta* и *Vexibia alopecuroides* содержатся биологически активные соединения, обладающие высокой антибактериальной и антифунгицидной активностью, оцененными по показателю IC_{50} ; противовоспалительной активностью, оцененной по способности ингибировать продукцию оксида азота; терапевтически значимым антиоксидантным потенциалом по отношению к радикал-катионам ABTS^{•+}. Суммарные экстракты комплексов биологически активных соединений из корней растений *S. deserta* и *V. alopecuroides* с данными активностями были получены методом мацерации с использованием в качестве экстрагента дихлорметана, разделены на индивидуальные компоненты с использованием флэш- и газовой хроматографии. Определено, что в экстрактах из корней *Vexibia alopecuroides* проявляют активность 9 индивидуальных веществ, относящихся к группе флавоноидов, в экстракте из корней в *S. deserta* – 4 вещества, относящиеся к группе дитерпеноидов. Индивидуальные вещества из корней *S. deserta* и *V. alopecuroides* проявляют антимикробную активность в отношении штаммов *S. aureus*, Methicillin-resistant *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. albicans* с показателями IC_{50} в диапазоне от < 0,8 до 13,38 мкг / мл, что позволяет рассматривать их как потенциальные кандидаты при разработке новогаленовых фитопрепаратов.

Ключевые слова: биологически активные соединения, суммарные экстракты, антимикробная активность, *Salvia deserta*, *Vexibia alopecuroides*.

Kustova T.S.¹, Samir A.R.², Karpenyuk T.A.³, Goncharova A.V.⁴,
Favarisova N.R.⁵, Tufuminova Ya.S.⁶, Kenesheva S.T.⁷

¹PhD, researcher of Scientific Research Institute of Biological and Biotechnological problems, e-mail: kus_talya@yahoo.com

²professor at NCNPR, professor of pharmacognosy at University of Mississippi, USA, University,
e-mail: sross@olemiss.edu

³doctor of biological sciences, professor of Biotechnology department, e-mail: Tatyana.Karpenyuk@kaznu.kz

⁴candidate of biological sciences, Associate Professor of Biotechnology department, e-mail: Alla.Goncharova@kaznu.kz

⁵bachelor-student of Biotechnology department, e-mail: nasima97@bk.ru

⁶PhD, researcher of Scientific Research Institute of Biological and Biotechnological problems, e-mail:
yanatufuminova@gmail.com

⁷PhD-student of Biotechnology department, e-mail: Sabinakenesheva@gmail.com
^{1,3,4,5,6,7}Al-Farabi Kazakh National University, Kazakhstan, Almaty

Biological activity of extracts from the roots of *Vexibia alopecuroides* and *Salvia deserta*

Biologically active compounds (BAC) of plants are represented by various classes of organic compounds and are a prospective raw material for developing therapeutic and preventive remedies. There are more than 6,000 plant species on the territory of the Republic of Kazakhstan that might become a source of raw materials for development and production of new domestic original phyto-pharmaceuticals. Therefore, testing of biologically active compounds extracted from Kazakhstan's wild-growing plants is a timely and promising task.

It was determined that the roots of two wild plants of Kazakhstan flora – *Salvia deserta* and *Vexibia alopecuroides* contain biologically active compounds with high a) antibacterial and antifungicidal activities estimated by the IC₅₀ index, b) anti-inflammatory activity estimated by the ability to inhibit production of nitric oxide, c) therapeutically significant antioxidant potential with respect to the ABTS⁺ radical cations. Crude extracts of biologically active compounds from the roots of *S. deserta* and *V. alopecuroides* plants that have the above mentioned activities were obtained by maceration with methylene chloride, purified into individual compounds using flash and gas chromatography. It was determined that 9 individual compounds that revealed biological activity were isolated from *Vexibia alopecuroides* roots' extract, which belongs to flavonoids, and 4 compounds were isolated from *Salvia deserta* roots' extract, which belongs to diterpenoids.

Individual compounds isolated from *Salvia deserta* and *Vexibia alopecuroides* roots' extract showed antimicrobial activity against *S. aureus*, Methicillin-resistant *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. albicans* with an IC₅₀ index within the range of < 0, 8 to 13.38 µg / ml. It allows to consider them as potential candidates for development of new-galenic phyto-pharmaceuticals.

Key words: biologically active compounds, crude extracts, antimicrobial activity, *Salvia deserta*, *Vexibia alopecuroides*.

Кустова Т.С.¹, Самир А.Р.², Карпенюк Т.А.³, Гончарова А.В.⁴,
Фаварисова Н.Р.⁵, Туфуминова Я.С.⁶, Кенешева С.Т.⁷

¹PhD, Биология және биотехнология проблемаларының ғылыми-зерттеу институтының ғылыми қызметкері,
e-mail: kus_talya@yahoo.com

²Табиғи өнімдерді зерттеу жөніндегі ұлттық орталық профессоры, Миссисипи университетінің
фармакогнозия профессоры, АҚШ, Университи к., e-mail: sross@olemiss.edu

³биология ғылымдарының докторы, биотехнология кафедрасының профессоры,
e-mail: Tatyana.Karpenyuk@kaznu.kz

⁴биология ғылымдарының кандидаты, биотехнология кафедрасының доценті, e-mail: Alla.Goncharova@kaznu.kz

⁵биотехнология кафедрасының бакалавриат студенті, e-mail: nasima97@bk.ru

⁶PhD, Биология және биотехнология проблемаларының ғылыми-зерттеу институтының ғылыми қызметкері,
e-mail: yanatufuminova@gmail.com

⁷биотехнология кафедрасының PhD докторантура студенті, e-mail: Sabinakenesheva@gmail.com
^{1,3,4,5,6,7}Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

***Vexibia alopecuroides* және *Salvia deserta* тамырларынан алынған сығындылардың биологиялық белсенділігі**

Өсімдіктердің биологиялық белсенді қосылыстары органикалық қосылыстардың әртүрлі сыныптары болып табылады, олар терапиялық және профилактикалық агенттерді құру үшін перспективті шикізат болып есептеледі. Қазақстан Республикасының территориясында 6000-нан астам өсімдік түрлері бар, олар тиісті зерттеулермен жаңа түпнұсқа фитопрепараттарды жасау және өндіру үшін шикізат базасы болуы мүмкін. Сондықтан Қазақстандағы жабайы өсімдіктердің биологиялық белсенді қосылыстарын сынау уақтылы және перспективалық міндет болып табылады. Қазақстан флорасының екі жабайы өсімдіктерінің (*Salvia deserta* және *Vexibia alopecuroides*) тамырынан алынған биологиялық белсенді қосылыстары жоғары а) IC50 бойынша

бағаланатын антибактериалды және антифундицидтік белсенділікке, б) азот оксидінің өндірісіне кедергі жасау қабілеті бойынша бағаланатын қабынуға қарсы белсенділікке, в) ABTS*+ радикал катиондарына қатысты терапиялық маңызды антиоксиданттық потенциалға ие екені анықталды. *Salvia deserta* мен *Vexibia alopecuroides* өсімдіктерінің тамырларынан мацерация әрекетімен, экстракциялаушы ретінде дихлорметан пайдалана отырып, флэш-газ хроматографиясын қолдана отырып, биологиялық белсенді қосылыстар кешенінің жалпы сығындылары жекелеген компоненттерге бөлінген. *Vexibia alopecuroides* тамырларынан алынған сығындыларда флавоноидтар тобына жататын 9 жеке зат, *Salvia deserta* тамырларынан алынған сығындыда – дитерпеноидтер тобына жататын 4 зат бар деп анықталды.

Salvia deserta және *Vexibia alopecuroides* тамырларындағы жеке заттар *S. aureus*, метициллинге төзімді *S. aureus*, Methicillin-resistant *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. albicans* штамдарына қарсы <0.8–ден 13.38 мкг/мл-ға дейінгі IC50 мәндері бойынша антимикробтық белсенділікті көрсетеді және бұл оларды новогалендік фитопрепараттарды әзірлеуде әлеуетті үміткерлер ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: биологиялық белсенді қосылыстар, жалпы сығындылары, антимикробтық белсенділік, *Salvia deserta*, *Vexibia alopecuroides*.

Введение

В структуре современного фармацевтического рынка неуклонно растет доля препаратов на основе лекарственного растительного сырья. По данным ВОЗ, сегодня около 80 % людей в мире используют фитопрепараты для лечения и профилактики различных заболеваний (Чиков, 2002: 28). Применение лекарственных растений для создания фитопрепаратов основано на использовании их химического состава и в зависимости от этого их способности оказывать противовоспалительное, седативное, противомикробное, гепатопротекторное действие (Павлова, 2013: 67; Biswas, 2014: 793; Matkowski, 2006: 347; Bettaieb, 2011: 1105). Широкий спектр действия фитопрепаратов объясняется многокомпонентностью состава биологически активных веществ, одновременным присутствием соединений различной природы. Мягкое терапевтическое действие, редкое возникновение побочных явлений и, наконец, экономическая доступность – вот немногие из достоинств растительных средств (Genta, 2010: 144; Grover, 2004: 124). Также фитопрепараты обладают сравнительно низкой токсичностью, не вызывают привыкания, обладают более высокой биодоступностью благодаря родству веществ растений человеческому организму (Виноградова, 1998: 241).

В Казахстане произрастает огромное множество лекарственных растений, поэтому в настоящее время уделяется большое внимание разработке и внедрению в производство отечественных фитопрепаратов разного спектра действия (Гарлыков, 2006: 321; Музычкина, 2006: 78). В связи с этим поиск источников новых эффективных препаратов для лечения многих

заболеваний, в том числе, в патогенезе которых ведущее место занимают инфекционно-воспалительные процессы, является актуальной проблемой современной клинической медицины и фармакологии. При фитотерапии инфекционно-воспалительных процессов предпочтение отдают растениям антибактериального, противовоспалительного, иммуномодулирующего, репаративного действия. Подбор средств и набор растений, применяющихся для лечения многих инфекционно-воспалительных заболеваний принципиально не отличается. В наше время для лечения таких болезней активно используются зверобой, ромашка, толокнянка, солодка и других травы (Череватый, 1980: 138; Grover, 2000: 462). Такие фитопрепараты можно найти в аптеке в виде травяных сборов или в форме таблеток (Степанова, 1989: 17). Однако, для создания фитопрепаратов нового поколения с заданным спектром фармакологической активности лучше использовать не сбор, а определенный состав биологически активных соединений, сонаправленно действующих на патогенетические звенья заболевания и, соответственно, усиливающих целевой (антимикробный, противовоспалительный и т.д.) эффект.

Цель работы: изучение биологической активности (антимикробных, антиоксидантных, противовоспалительных свойств) экстрактов из корней *Vexibia alopecuroides* и *Salvia deserta*.

Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись суммарные экстракты и их индивидуальные вещества, полученные из собранных в экспедиционных выездах по Алматинской области дикорастущих растений флоры Казахстана

– *Salvia deserta* (корни), *Vexibia alopecuroides* (корни). Образцы были собраны в фазу цветения, идентифицированы на основе материалов камеральной обработки и таксономического определения видов по определителям (Павлов, 1966: 349; Голосков, 1969: 156). В работе применялись стандартные методы заготовки, фиксации и подготовки к дальнейшим исследованиям образцов растений (Музычкина, 2010: 128; Sarker, 2005: 315).

Суммарные экстракты из корней *V. alopecuroides* и *S. deserta* получены методом мацерации с использованием в качестве экстрагента дихлорметана. Весь растительный материал был высушен методом теневой проветриваемой сушки и хранился в пластиковых вакуумных контейнерах при температуре 20-22 °С в вентилируемом помещении, закрытом от солнечных лучей. Сырье измельчали до размера 5 мм, взвешивали и помещали в стеклянные емкости для экстракции дихлорметаном в соотношении сырье: растворитель 1:10 (w/v) на 24 часа при периодическом помешивании, на встряхивателе KS 260 (КА, Германия). Дихлорметановый экстракт сливали и растворитель отгоняли на роторном испарителе EW-28615-04 (Cole-Parmer, США) с последующим дополнительным упариванием. После экстракции оценивали суммарный выход сухого вещества. Для определения биологических активностей и содержания БАС сухие экстракты перерастворяли в различных растворителях, согласно данным по растворению и методу исследования.

Антимикробную активность суммарных экстрактов определяли методом серийных разведений в бульоне (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006: 5). Использовали следующие штаммы микроорганизмов, полученные из Американской коллекции типовых культур (АТСС): *Staphylococcus aureus* ATCC № 29213, *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC №43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Candida albicans* ATCC № 90028. Концентрацию БАС, вызывающую 50% ингибирование ростовых процессов в культуре тест-объектов (IC_{50}) рассчитывали графически. В качестве положительного контроля использовали «Ципрофлоксацин» (INC Biomedicals) для бактерий и «Амфотерицин В» (INC Biomedicals) для грибов.

Определение антиоксидантной активности (АОА) суммарных экстрактов проводили фотометрически с использованием радикал-катионов ABTS^{•+} по методу Re (Re, 1999: 1233).

Общее количество флавоноидов определяли колориметрическим методом с использованием хлорида алюминия при длине волны 510 нм в спиртовых разведениях сухих экстрактов. Концентрация была скорректирована под диапазон концентрации флавоноидов до 400 мкг/мл и стандартный раствор кверцетина (10-100 мкг/мл). Общее содержание флавоноидов в экстрактах выражено в процентах от эквивалента кверцетина на 100 г сухой массы образца (Patel, 2010: 68).

Общее количество витамина С определяли фотометрическим методом с использованием хлорного железа и феррицианида калия при длине волны 693 нм (Пат. 2490628 РФ, 2013: 2).

Противовоспалительную активность суммарных экстрактов определяли по оксиду азота (NO) (Chang, 2012: 973).

Часть суммарных экстрактов была разделена с помощью колоночной хроматографии на приборе Biotage (Isolera™, Швеция), используя 100 г SNAP картридж (40-63 мкм, 60Å, 39 x 157 мм) при потоке элюентов 40 мл/мин используя для экстракта из корней *S. deserta* гексан и диэтиловый эфир, для экстракта из корней *V. alopecuroides* гексан и изопропанол при ступенчатом градиенте (первая ступень в соотношении 0:30 (v/v), 2000 мл, вторая ступень в соотношении 30:100 (v/v), 400 мл, и завершающая ступень промывка метанолом 300 мл. Сбор фракций контролировали при длине волны 254 нм и 220 нм. Порции фракции в объеме 25 мл собирали в пробирки 16x150 мм. Все фракции были оценены методом тонкослойной хроматограммы (ТСХ) используя гексан/ацетон в качестве растворителя (75:25) на AnalTech SilicaGel GF 250 мкм пластине (США). Хроматографически одинаковые фракции объединяли, концентрировали досуха и использовали для исследования их антимикробного потенциала. Фракции, демонстрирующие антимикробную активность, очищали хроматографическими методами и индивидуальные вещества идентифицировали на основе спектроскопических данных с использованием ¹H-ЯМР, ¹³C-ЯМР и анализа LC/MS с высоким разрешением. Для ЯМР спектроскопии: образцы индивидуальных веществ растворяли в 150 мкл дейтерированных растворителей. Выбор растворителя определялся растворимостью анализируемого вещества. ¹H и ¹³C ЯМР-спектры регистрировали на ЯМР-спектрометре Bruker AMX 500 (Германия) со стандартными импульсными последовательностями, с рабочей частотой 500 МГц для ¹H и 125 МГц для ¹³C. Полученные

спектры обрабатывали с помощью программы MestReNova. Для LC/MS анализа все соединения анализировали на приборе Agilent 1100 (США) совмещенного с масс-спектрометром JEOL AccuTOF (JMS-T100LC) (Япония) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. Отдельно разделенные вещества растворяли в метаноле и вводили напрямую в поток скоростью 0,4 мл/мин, 20 % H₂O/80 % MeOH, содержащего раствор 1 мкг/мл L-триптофана. Массовый дрейф компенсаций был выполнен по отношению к L-триптофану [M + H]⁺ и /или [2M + H]⁺.

Результаты исследования и их обсуждение

Для разработки эффективных фармакологических препаратов, необходимо подобрать лекарственное растительное сырьё, содержащее биологически активные компоненты с широким спектром действия. Основываясь на результатах фитохимических, аналитических, технологических и микробиологических исследований растительного сырья, полученных путем систематизации литературного материала, а также собственных предварительных исследований по определению выраженности и спектра антимикробной активности некоторых видов флоры Казахстана, нами в качестве сырья были выбраны дикорастущие растения флоры Казахстана: 1) *Salvia deserta* (Шалфей пустынный) характеризуется антибактериальной, антимикотической, антипротозойной, антивирусной, противоопухолевой активностью (Беленовская, 1991: 72), проявление которых может быть обусловлено присутствием в растении терпеноидов, хинонов, флавоноидов, алкалоидов, дубильных веществ. 2) *Vexibia alopecuroides* (Софора лисохвостная) характеризуется наличием противовоспалительной, антилипооксигеназной, антиоксидантной, иммуномодулирующей и противомикробной активностями (Krishna, 2012: 1146), благодаря присутствию алкалоидов (матрин, пахикарпин, софокарпин), флавоноидов и других БАС.

Флавоноиды и другие БАС фенольной природы, алкалоиды и ряд терпеноидов имеют статус ведущих группы биологически активных соединений у многих лекарственных растений, обладающих одной или несколькими искомыми фармакологическими (антимикробной, противовоспалительной и т.д.) активностями.

Технологический фрагмент работы выполнен по традиционной схеме, начиная с установления основных технологических параметров.

Общая блок-схема получения суммарных комплексов представлена на рисунке 1.

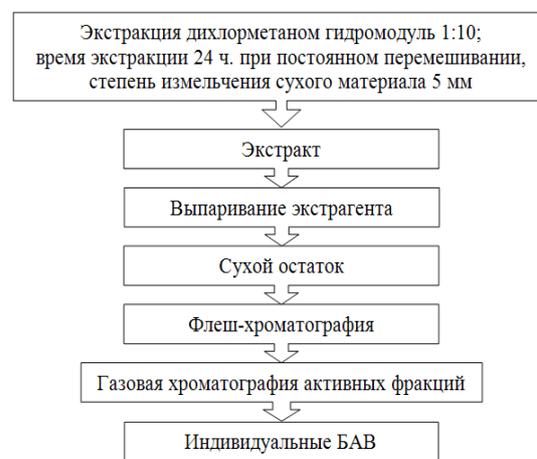


Рисунок 1 – Блок-схема получения сухих экстрактов БАС из корней изучаемых растений

При подборе условий выделения БАС из растительного сырья для получения сухих экстрактов, нами сделан упор на выделение БАС, проявляющих прежде всего антимикробную и антиоксидантную активности, таких как флавоноиды, танины, антоцианы, алкалоиды и т.д., стандартные методы экстракции которых основаны на использовании органических растворителей, в том числе дихлорметана. Для получения комплексных экстрактов БАС отработаны параметры извлечения активных компонентов из растительного сырья методом мацерации данным растворителем, позволившие получить образцы с высоким содержанием терпеноидов/флавоноидов и витамина С, терапевтически значимым антиоксидантным потенциалом; антибактериальной и антифунгицидной активностями, сопоставимыми с активностью антибиотиков ципрофлоксацин и амфотерицин В и другими биологическими активностями, увеличивающими целевой эффект. Комплексные экстракты БАС из корней *S. deserta* и *V. alopecuroides*, полученные по данной схеме извлечением компонентов дихлорметаном, характеризовались показателями, обобщенными в таблице 1.

Данные суммарные экстракты обладают антибактериальной активностью, сопоставимой с активностью антибиотика II поколения ципрофлоксацина, терапевтически значимым антиоксидантным потенциалом и противовоспалительной активностью.

Таблица 1 – Характеристика комплексных экстрактов, полученных из корней *S. deserta* и *V. alopecuroides*

Показатель		<i>S. deserta</i>	<i>V. alopecuroides</i>
Вес суммарного экстракта (сухой вес, г/100 г сухого сырья)		2,5	2,2
Флавоноиды (мг/г сухого экстракта)		36-40	76-80
Витамин С (мг/г сухого экстракта)		28-30	29-30
АОА	(% от АОА витамина С в концентрации 100 мкг/мл)	49-52	28-30
	IC ₅₀ (мкг/мл)	≤100	≥100
Антимикробная активность IC ₅₀ (мг/мл)		<i>St. aureus</i>	0,0057
		<i>MRSA</i>	0,0076
Противовоспалительная активность (% ингибирования продукции NO)		53	64

Примечание – ≤100 означает, что образец является активным антиоксидантом, ≥100 – означает, что образец не активен. IC₅₀ – 50 % ингибирующая концентрация. IC₅₀ для антибиотика ципрофлоксацина составила 0,0001 мг/мл.

Экстракты, выделенные из корней *V. alopecuroides* и *S. deserta* содержат биологически активные вещества различной химической природы, которые обуславливают совокупный эффект и фармакологическое действие, поэтому следующим этапом работы было изучение их химического состава и идентификация биологически активных веществ, обуславливающих проявление выявленных активностей.

Для идентификации основных БАС, суммарные экстракты из корней *V. alopecuroides* и *S. deserta* разделили с помощью флэш-хроматографии. Полученные фракции были проверены на наличие антимикробной активности (Таблицы 2, 4).

Только фракции D, E, F, H и I, выделенные из суммарного экстракта *V. alopecuroides*, обладали избирательной антибактериальной активностью в основном по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Methicillin-resistant S. aureus* (таблица 2).

На основании полученных данных, провели идентификацию БАС только этих пяти фракций, которые обладали антимикробным потенциалом.

Фракция F экстракта *V. alopecuroides* была идентифицирована, как софорафлавоноид I, на основании физико-химических данных, данных спектрального анализа и их сравнения с литературными данными. Из фракции D было выделено два соединения, которые были идентифицированы как леахианон А и глаброл.

Таблица 2 – Антимикробные свойства фракций экстракта, выделенного из корней *V. alopecuroides*

Исследуемая фракция	<i>S. aureus</i>	<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. albicans</i>
IC ₅₀ (мкг/мл)						
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	15,08	>20	>20
Фракция F	1,29	1,7	>20	>20	>20	>20
Фракция G	4,68	5,31	>20	>20	>20	>20
Фракция H	<0,8	<0,8	>20	3,82	17,73	4,45
Фракция I	1,72	<0,8	>20	>20	>20	>20
Фракция J	11,10	6,46	>20	>20	>20	>20
Ципрофлоксацин	0,1±0,02	0,1±0,01	0,1±0,01	-	-	-
Амфотерицин В	-	-	-	0,14±0,03	0,55±0,1	0,28±0,1

Примечание – в таблицах 2 и 4 представлено среднее значение ± стандартное отклонение (n=3), >20 – означает, что образец не активен

Во фракции Е был идентифицирован софорафлавоны G, а во фракции Н было выделено пять чистых соединений, идентифицированных как алопекурон А, алопекурон В, алопекурон С, алопекурон D, алопекурон F. Во фракции I не были идентифицированы вещества, в связи с большим количеством индивидуальных веществ и малым количеством выделенной фракции.

После разделения все индивидуальные вещества сохранили антимикробную активность в отношении *S. aureus* и *Methicillin-resistant S. aureus*, а антифунгицидная активность была показана только у четырех индивидуальных веществ: софорафлавоны G, алопекурон А, алопекурон В, алопекурон С (таблица 3). Данные по антимикробной активности выделенных индивидуальных веществ представлены впервые.

Таблица 3 – Антимикробные свойства отдельных веществ экстракта *V. alopecuroides*

Исследуемое индивидуальное вещество	<i>S. aureus</i>	<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	<i>P. Aeruginosa</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. Krusei</i>	<i>C. albicans</i>
	IC ₅₀ (мкг/мл)					
леахианон А	<0,8	<0,8	>20	>20	>20	>20
глабрал	1,06	1,0	>20	>20	>20	>20
софорафлавоны G	1,03	0,93	>20	10,45	>20	>20
софорафлавоны I	1,29	1,7	>20	>20	>20	>20
алопекурон А	<0,8	<0,8	12,52	13,38	8,15	5,21
алопекурон В	<0,8	<0,8	11,58	7,69	9,04	5,54
алопекурон С	<0,8	0,89	15,2	>20	>20	14,88
алопекурон D	0,81	<0,8	>20	>20	>20	>20
алопекурон F	4,68	5,62	>20	>20	>20	>20
Ципрофлоксацин (контроль)	0,1±0,02	0,1±0,01	0,1±0,01	-	-	-
Амфотерицин В (контроль)	-	-	-	0,14±0,03	0,55±0,1	0,28±0,1

Примечание – в таблицах 3 и 5 представлено среднее значение ± стандартное отклонение (n=3), >20 – означает, что образец не активен

Среди фракций суммарного экстракта *S. deserta* (таблица 4), только две фракции обладали высокими антимикробными свойствами по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Methicillin-resistant S. aureus* – это фракция В и С.

Из них было выделено 4 чистых соединения, на основании физико-химических данных, данных спектрального анализа и их сравнения с описанными в литературе. Вещества были идентифицированы как: таксодион, ферругинол, 7-О-ацетилгорминон и горминон.

Таксодион, ферругинол и горминон показали хорошую антимикробную активность против *S. aureus* и *Methicillin-resistant S. aureus* – показатель IC₅₀ варьировал между 2,75 – 2,83 мкг/

мл и 1,95 – 2,63 мкг/мл, соответственно. Таксодион также проявил хорошую антифунгицидную активность в отношении *C. glabrata* – показатель IC₅₀ составил 2,67 мкг/мл. Вещество 7-О-ацетилгорминон показало слабую антимикробную активность в отношении *S. aureus* и *Methicillin-resistant S. aureus*, показатель IC₅₀ был 14,48 мкг/мл и 11,11 мкг/мл, соответственно (таблица 5).

Полученные нами результаты по антимикробной активности веществ, выделенных из *S. deserta* согласуются с данными полученными Ulubelen A. (Ulubelen, 2001: 550), по горминону и 7-О-ацетилгорминону в отношении *S. aureus*, однако им не была найдена антимикробная активность для ферругинола.

Таблица 4 – Антимикробные свойства фракций экстракта, выделенного из корней *S. deserta*

Исследуемая фракция	<i>S. aureus</i>	<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. albicans</i>
	IC ₅₀ (мкг/мл)					
Фракция А	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция В	2,95	2,6	>20	>20	>20	>20
Фракция С	6,66	4,57	>20	>20	>20	>20
Фракция D	18,51	13,24	>20	>20	>20	>20
Фракция E	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция F	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция G	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция H	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция I	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция J	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция L	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция С'	0,8	<0,8	>20	>20	>20	>20
Ципрофлоксацин	0,1±0,02	0,1±0,01	0,1±0,01	-	-	-
Амфотерицин В	-	-	-	0,14±0,03	0,55±0,1	0,28±0,1

Таблица 5 – Антимикробные свойства отдельных веществ экстракта *S. deserta*

Исследуемое индивидуальное вещество	<i>S. aureus</i>	<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	<i>P. Aeruginosa</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. Krusei</i>	<i>C. albicans</i>
	IC ₅₀ (мкг/мл)					
таксодион (фракция А)	2,78	2,63	>20	2,67	5,39	11,69
ферругинол (Фракция В)	2,75	1,95	>20	>20	>20	>20
7-О-ацетилгорминон	14,48	11,11	>20	>20	>20	>20
Горминон	2,83	1,96	>20	>20	>20	>20
Ципрофлоксацин (контроль)	0,3±0,02	0,4±0,01	0,3±0,01	-	-	-
Амфотерицин В (контроль)	-	-	-	0,1±0,03	0,3±0,05	0,1±0,07

Заключение

Выявлены новые источники биологически активных веществ с антимикробным, антиоксидантным и противовоспалительным потенциалом – корни дикорастущих растений *Salvia deserta* и *Vexibia alopecuroides*. Установлено, что в экстрактах из корней *V. alopecuroides* проявляют активность 9 индивидуальных веществ, относящихся к груп-

пе флавоноидов, в экстракте из корней *S. deserta* – 4 вещества, относящиеся к группе дитерпеноидов. Полученные данные по биологической активности позволяют сделать предположение, что при разработке фитопрепаратов на основе извлечений БАС из корней *S. deserta* и *V. alopecuroides* можно создавать композиции используя как индивидуальные вещества или фракции, их содержащие, так и сами суммарные экстракты.

Литература

- Чиков П.С. Лекарственные растения. – М.: Знание, 2002. – 496 с.
- Павлова Л.И., Калиекова К.С., Ожмухаметова Э.К. Применение лекарственных растений, содержащих биологические активные вещества различной химической структуры // Наука и здравоохранение. – 2013. – № 5. – С. 67-68.
- Biswas N.N., Saha S., Ali M. Kh. Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and analgesic activities of ethanolic extract of *Mentha arvensis* L. *Asian Pacific // Journal of Tropical Biomedicine*. – 2014. – № 4(10). – P. 792-797.
- Matkowski A., Piotrowska M. Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae // *Fitoterapia*. – 2006. – № 77. – P. 346–353.
- Bettaieb I., Hamrouni-Sellami I., Bourgou S. et al. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. // *ActaPhysiol Plant*. – 2011. – № 33. – P. 1103–1111.
- Genta S.B., Cabrera W.M., Mercado M.I., Grau A., Catalan C.A., Sanchez S.S. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smilax glabra*: Constituents of the most active fractions // *Chemico-Biological Interactions*. – 2010. – Vol.185. – P.143–152.
- Grover J.K., Yadav S.P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2004. – Vol. 93. – P.123–132.
- Виноградова Т.А., Гажев Б.Н., Виноградов В.М., Мартынов В.К. Практическая фитотерапия. – М.: Олма-Пресс, СПб.: Нева, Валери. – 1998. – 640 с.
- Тарлыков П.В., Бердин А.Г., Кусаинова Д.Д., Хабаров И.А., Тулеуов Б.И. и др. Растения Казахстана – перспективные источники новых адаптогенных препаратов // *Материалы X Международного съезда «Фитофарм 2006»*. – СПб: НИИХ СПбГУ, 2006. – С. 321.
- Музыкакина Р.А., Корулькин Д.Ю. Биологически активные вещества растений. Выделение, разделение, анализ. – Алматы: Атамұра, 2006. – 438 с.
- Череватый В.Т. Сравнительное изучение антибактериального действия различных экстрактов из шалфея лекарственного // *Растительные ресурсы*. – 1980. – Т. 16. – № 1. – С. 137-139.
- Grover J.K., Vats V., Rathi S.S. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2000. – № 73. – P. 461–470.
- Степанова Э. Ф. Биотехнологические исследования по безотходному использованию солодки: автореф. дисс. д. фарм. н.: 15.00.01. – Харьков, 1989. – 47 с.
- Павлов Н.В. Флора Казахстана – Алма-Ата: Академия наук Казахской ССР. – 1966. – Т.9. – 654 с.
- Голосков В.Р. Иллюстрированный определитель растений Казахстана. – Алма-Ата: Наука. – 1969. – Т.1. – 243 с.
- Музыкакина Р.А., Корулькин Д.Ю., Абилов Ж.А. Основы химии природных соединений. – Алматы: Қазақ университеті. – 2010. – 564 с.
- Sarker S. D., Latif Z., Gray A. I. *Natural Products Isolation*. – New York City: Human Press. -2005. – 515 p.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically*. – 2006, Seventh edition. – Document M7-A7. – 26 p.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation depolarization assay // *Free Radical Biology and Medicine*. – 1999. – Vol. 26. – № 9/10. – P. 1231-1237.
- Patel A. et al. Estimation of Flavonoid, Polyphenolic Content and In-vitro Antioxidant Capacity of leaves of *Tephrosia purpurea* Linn. (Leguminosae) // *International Journal of Pharma Sciences and Research*. – 2010. – Vol.1. – N 1. – P. 66-77.
- Пат. 2490628 РФ. Способ определения содержания аскорбиновой кислоты / Е.А. Бородин; опубл. 20.08.13, Бюл. №23. – 4 с.
- Chang W.T., Huang W.C., Liou C.J. Evaluation of the anti-inflammatory effects of phloretin and phlorizin in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages // *Food Chemistry*. – 2012. – Vol.134. – P. 972-979.
- Беленовская Л. М. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. сем. *Nitellaceae* – *Lobeliaceae*. – М.: Наука. – 1991. – С.72-83.
- Krishna P.M., KNV R., Sandhya S., Banji D. A review on phytochemical, ethnomedical and pharmacological studies on genus *Sophora*, Fabaceae // *Revista Brasileira de Farmacognosia*. – 2012. – Vol.22. – P.1145-1154.
- Ulubelen A., Öksüz S., Topcu G., Gören A.C., Voelter W. Antibacterial Diterpenes from the Roots of *Salvia b lepharochlaena* // *Journal of natural products*. – 2001. – Vol. 64. – P. 549-551.

References

- Bettaieb I., Hamrouni-Sellami I., Bourgou S. et al. (2011) Drought effects on the polyphenol composition and antioxidant activities in the aerial parts of *Salvia officinalis* L. *ActaPhysiol Plant*, no. 33, p. 1103-1111.
- Biswas N.N., Saha S., Ali M. Kh. (2014) Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic and analgesic activities of ethanolic extract of *Mentha arvensis* L. *Asian Pacific. Journal of Tropical Biomedicine*, no. 4 (10), p. 792-797.
- Chang W.T., Huang W. C., Liou C.J. (2012) Evaluation of the anti-inflammatory effects of phloretin and phlorizin in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophages. *Food Chemistry*, vol. 134, p. 972-979.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2006) *Methods for dilution antimicrobial susceptibility*. Seventh edition, Document M7-A7, 26 p.

- Genta S.B., Cabrera W.M., Mercado M. I., Grau A., Catalan C. A., Sanchez S.S. (2010) Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions. *Chemico-Biological Interactions*, vol.185, p. 143-152.
- Grover J.K, Yadav S.P. (2004) Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 93, p. 123-132.
- Grover J.K., Vats V., Rathi S.S. (2000) Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology*, no. 73, p. 461-470.
- Krishna P.M., KNV R., Sandhya S., Banji D. (2012) A review on phytochemical, ethnomedical and pharmacological studies on genus *Sophora*, Fabaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol.22, p.1145-1154.
- Matkowski A., Piotrowska M. (2006) Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, no. 77, p. 346-353.
- Patel A. et al. (2010) Estimation of Flavonoid, Polyphenolic Content and In-vitro Antioxidant Capacity of leaves of *Tephrosia purpurea* Linn. (Leguminosae). *International Journal of Pharma Sciences and Research*, vol.1, no. 1, p. 66-77.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A. et al. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation depolarization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 26, no. 9/10, p. 1231-1237.
- Sarker S. D., Latif Z., Gray A. I. (2005) *Natural Products Isolation*. New York City: Human Press, 515 p.
- Ulubelen A., Öksüz S., Topcu G., Gören A.C., Voelter W. (2001) Antibacterial Diterpenes from the Roots of *Salvia b lepharochlaena*. *Journal of natural products*, vol. 64, p. 549-551.
- Belenovskaya L.M. (1991) *Rastitelnye resursy SSSR: Tsvetkovye pasteniya, ikh khimicheskii sostav, ispolzovanie. sem. Hippuridaceae-Lobeliaceae* [Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use of fam. Hippuridaceae – Lobeliaceae]. Moskva: Nauka, p.72-83.
- Vinogradova T.A., Gazhev B.N., Vinogradov V.M., Martynov V.K. (1998) *Prakticheskaya fitoterapiya* [Practical herbal medicine]. Moskva: Olma-Press, SPb.: Neva, Valeri, 640 p.
- Goloskov V.R. (1969) *Illustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazakhstana* [Illustrated determinant of plants of Kazakhstan]. Alma-Ata: Nauka, vol. 1, 243 p.
- Muzychkina RA, Korulkin D.Yu. (2006) *Biologicheski aktivnye veshstva rastenii: Vydelenie, razdelenie, analiz* [Biologically active substances of plants. Isolation, separation, analysis]. Almaty: Atamura, 438 p.
- Muzychkina R.A., Korulkin D.Yu., Abilov Zh.A. (2010) *Osnovy khimij prirodnykh soedinenij* [Fundamentals of the chemistry of natural compounds]. Almaty: Kazakh university, 564 p.
- Pavlov N.V. (1966) *Flora Kazakhstana* [Flora of The Kazakhstan]. Alma-Ata: Akademiya nauk Kazakhskoi SSR, vol. 9, 654 p.
- Pavlova L.I., Kalieva K.S., Ozhmukhametova E.K. (2013) *Primenenie lekarstvennykh rastenij, sodержashikh biologicheskie aktivnye veshstva razlichnoi khimicheskoi struktury* [Application of medicinal plants containing biological active substances of different chemical structure]. *Nauka i zdravookhranenie*, no. 5, p. 67-68.
- Pat. 2490628 RF. (2013) *Sposob opredeleniya sodержaniya askorbinovoj kisloty* [Method for determination of ascorbic acid content]. E.A. Borodin; publ. 20.08.13, Bul. № 23, 4 p.
- Stepanova E.F. (1989) *Biotekhnologicheskie issledovaniya po bezotkhodnomu ispolzovaniyu solodki* [Biotechnological research on waste-free use of licorice]. Abstract of the diss. ... d. pharm. s.: 15.00.01. – Kharkov, 1989. – 47 p.
- Tarlykov P.V., Berdin A.G., Kusainova D.D., Khabarov I.A., Tuleuov B.I. etc. (2006) *Rasteniya Kazakhstana – perspektivnye istochniki novykh adaptogenykh preparatov* [Plants of Kazakhstan – promising sources of new adaptogenic preparations]. Abstracts of the X International Congress «Fitofarm 2006», SPb: NIIKH SPbGU, p. 321.
- Cherevatyi V.T. (1980) *Sravnitelnoe izuchenie antibakterialnogo deistviya razlichnykh ekstraktov iz shalfeya lekarstvennogo* [Comparative study of the antibacterial action of various extracts from the medicinal sage]. *Plant resources*, is. 16, no. 1, p. 137-139.
- Chikov P.S. (2002) *Lekarstvennye rasteniya* [Medicinal plants]. Moskva: Znanie, 496 p.