

УДК 581.19; 579.6

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА СУХИХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ СЫРЬЯ ВИДОВ РОДА *VERONICA L.*

¹Немерешина О.Н., ²Гусев Н.Ф., ²Филиппова А.В., ²Сычева М.В.

¹Оренбургская государственная медицинская академия;

²Оренбургский государственный аграрный университет, Оренбург,

e-mail: olga.nemerech@gmail.com

Статья посвящена вопросам изучения антимикробных свойств природных биологически активных соединений – флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, извлекаемых методом вихревой турбоэкстракции из сырья растений рода *Veronica L.* (сем. *Scrophulariaceae Juss.*) Предуралья. На основании проведенного исследования авторы делают вывод о возможности применения растительного сырья *Veronica L.* в медицинской практике.

Ключевые слова: растения, биологически активные вещества, сухие экстракты, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, *Veronica L.*, антимикробное действие

THE ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF DRY EXTRACTS FROM RAW MATERIALS OF SORTS OF SORT *VERONICA L.*

¹Nemereshina O.N., ²Gusev N.F., ²Filippova A.V., ²Sycheva M.V.

¹The Orenburg state medical academy;

²The Orenburg state agrarian university, Orenburg, e-mail: olga.nemerech@gmail.com

Article is devoted to the study of antimicrobial properties of natural биологиче-ski active compounds – flavonoids and фенолкарбоновых acids, derived by the method of vortex турбоэкстракции of raw material of plants of the genus *Veronica L.* (this. *Scrophulariaceae Juss.*) The Ural regions. On the basis of the research the authors make a conclusion about possibility of use of vegetable raw materials *Veronica L.* in medical practice.

Keywords: plants, biologically active substances, dry extracts, флавоноиды, phenol carbonic acids, *Veronica L.*, antimicrobial action of

Лекарственные препараты, получаемые из растений, занимают достойное место среди средств профилактики и лечения многих заболеваний. На сегодняшний день в Государственном реестре лекарственных средств МЗ РФ приведено около 300 видов растений, применяемых в научной медицине и используемых для приготовления лекарственных средств [5]. В целом же в фитотерапии – научной и народной медицине, гомеопатии и ветеринарии используется около двух тысяч видов растений [12]. При этом биоразнообразии лекарственных растений используется далеко не полностью, что связано с отсутствием данных о ресурсах, недостатком сведений о химическом составе растительного сырья и малой изученностью фармакологических свойств фитопрепаратов [7].

Повсеместное распространение многих лекарственных растений, дешевизна получаемых из них препаратов и высокая физиологическая активность комплекса биологически активных (действующих) веществ – все это не может не привлекать внимание исследователей. Поэтому, одной из актуальных проблем медицинской и биологической науки является поиск новых источников лекарственного растительного сырья, способных расширить сырьевую базу и обновить

ассортимент лекарственных средств растительного происхождения.

Растения в процессе роста и развития вырабатывают и накапливают вещества первичного и вторичного синтеза. Вещества первичного синтеза – белки, углеводы и липиды, выполняют в клетках энергетическую, пластическую и ряд других функций, обеспечивая процессы жизнедеятельности. Вещества вторичного синтеза представляют собой химические соединения, обладающие фармакологической активностью и способные оказывать регулирующее влияние на процессы обмена в растительных и животных организмах [13, 16]. Компоненты вторичного синтеза – флавоноиды, иридоиды, азотсодержащие вещества, фитонциды, эфирные масла, таниды, гликозиды, сапонины, ферменты, кумарины, органические кислоты, горечи и многие другие соединения, накапливаемые растениями и обладающие фармакологической активностью и терапевтическим действием, принято называть биологически активными веществами (БАВ).

Исследуя флору Предуралья в период экспедиций (1970–1988 и 1999–2010 гг.), мы обратили внимание на растения рода вероника – *Veronica L.*, семейства Норичниковых – *Scrophulariaceae Juss.*, которые имеют

обширный ареал в Евразии и часто входят в состав субдоминантов растительных сообществ [8, 9]. Значительное число видов указанного рода широко применяются в фитотерапии нашей страны и ряда стран Западной Европы и Центральной Азии [1, 3, 11, 12, 14, 15].

В народной медицине препараты из растений рода *Veronica* применяются в качестве противовоспалительных, отхаркивающих, седативных, кровоостанавливающих, антитоксических и ранозаживляющих средств [1, 6, 8, 11, 12, 14, 19]. Некоторые виды рода *Veronica* обладают противораковым действием [3]. Вероника лекарственная – *V. officinalis* включена в состав многих сборов, лечебных чаев и биологически активных пищевых добавок [6]. Виды *Veronica L.* широко используются для лечения кожных болезней в ветеринарной практике, а их препараты, при исследовании на животных, показали эффективность при заболеваниях сердечно-сосудистой системы [6].

Целью нашего исследования являлось установление антибактериальных свойств препаратов, полученных из сырья растений рода *Veronica*, произрастающих в лесостепной и степной зонах Предуралья.

Из многообразия видов *Veronica* нами были выбраны наиболее распространенные в регионе представители: *V. officinalis L.* – в. лекарственная, *V. spicata L.* – в. колосистая, *V. incana L.* – в. седая и *V. spuria L.* – в. настоящая.

Материалы и методы исследования

Растительное сырье для исследования (надземная часть – трава) было заготовлено в период цветения растений в различных биотопах Предуралья (2007–2010 гг.) и высушивалось воздушно-теневым способом.

В. лекарственная, относящаяся к растениям-мезофитам и встречающаяся в хвойных лесах была собрана в сосновом бору группы ассоциаций *Pineta herbosa* Кунгурско-Красноуфимской лесостепи Среднего Предуралья (окр. д. Крылово, Красноуфимского района Свердловской области).

В. настоящая, являющаяся ксеромезофитом была собрана на остепненных лугах (Александровские сопки, Красноуфимского района Свердловской области).

Два оставшихся вида: в. колосистая и в. седая относятся к группе ксерофитов и ареал их произрастания охватывает степную зону Южного Предуралья. В. колосистая собрана на остепненных лугах в злаково-разнотравных ассоциациях (окрестности с. Каменноозерное Оренбургского р-на, Оренбургской области), а в. седая – на степных участках (каменистая степь) в типчакково-разнотравной ассоциации (окрестности с. Саракташ, Оренбургской области).

На первом этапе нами проводилось фитохимическое исследование растений на содержание ос-

новных групп действующих веществ, оказывающих влияние на биологические процессы в растительных и животных организмах. Исследованию подвергались надземные органы растений (трава), собранные в период цветения растений в 2007–2010 гг. Обнаружение, идентификация и количественное определение алкалоидов, флавоноидов, дубильных веществ, сапонинов, кумаринов и иридоидов проводили методами принятыми Всероссийским Институтом Лекарственных Растений (ВИЛР) и Институтом биохимии растений РАН [4, 13, 16].

Для выявления антимикробной активности комплекса биологически активных веществ в видах рода *Veronica* из сырья растений нами были изготовлены сухие экстракты полифенольных соединений. Сухие экстракты готовили с использованием метода турбозэкстракции [2], основанном на вихревом перемешивании (с количеством оборотов до четырех тысяч в минуту) сырья и экстрагента при одновременном измельчении сырья. В качестве экстрагента использовали воду, нагретую до температуры 40–42 °С и этанол различной концентрации (табл. 1). Вытяжку отстаивали при температуре +5 °С в течение трёх суток, затем фильтровали, сгущали и высушивали в сушильном шкафу при температуре 70 °С. Полученный экстракт – порошок бурого цвета, исследовали на наличие флавоноидов методом двумерной хроматографии на бумаге.

Испытание антибактериальной активности полученных препаратов проводили в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий. В качестве тест-микроорганизмов были использованы штаммы, рекомендуемые для исследования препаратов [4, 10, 17]: культура золотистого стафилококка – *Staphylococcus aureus*, штам-209 и культура кишечной палочки – *Escherichia coli*, штам М-17, полученные из Государственного НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов (г. Москва).

Исследования проводилось нами на жидких питательных средах методом двукратных серийных разведений [10]. Для этого готовили двукратное разведение извлечений в мясопептонном бульоне. Разведение готовили непосредственно в пробирках, подлежащих zaseву. В каждом ряду разведений для контроля имели равное количество пробирок с соответствующими разведениями этилового спирта и две пробирки со средой без извлечения, а при исследовании водных извлечений в качестве контроля брали две пробирки со средой без извлечения.

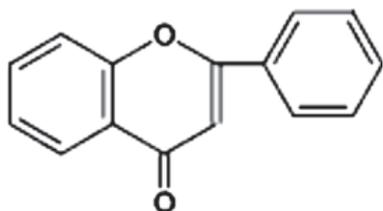
Культуры для экспериментов готовились следующим образом: суточные агаровые культуры переносили петлёй в пробирку с физиологическим раствором, где находилось исходное разведение в 500 млн микробных тел в 1 мл по оптимальному стандарту. Полученную взвесь разводили бульоном, вначале в 100, а затем еще в 10 раз, для того, чтобы получить взвесь микробов содержащую 500 000 микробных тел в 1 мл, которая являлась рабочим разведением культуры. Изготовленную культуру вносили по 1 мл как в пробирки с извлечением, так и в контрольные, не содержащие извлечений.

Бактериальная нагрузка составляла, таким образом, 250 000 микробных тел в 1 мл. Вслед за этим штативы с пробирками помещались в термостат при температуре +37 °С. Результаты опыта учитывались через 20–24 часа. Регистрировали наличие роста (помутнение) или задержку роста в среде за счет бактериостатического действия извлечений. За действующую

щую дозу принимали ту наименьшую концентрацию извлечения, при которой наблюдается задержка роста бактериальных культур [10].

Результаты исследования и их обсуждение

Фитохимическое исследование видов *Veronica* показало, что в исследуемых растениях наиболее характерными соединениями являются флавоноиды, таниды,

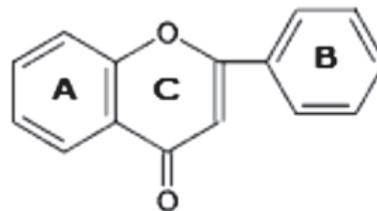


Структура флавоноидов варьирует за счет изменения числа и положения гидроксильных групп, наличия или отсутствия $C=O$ – группы в кольце С, положением кольца В. Флавоноиды способны образовывать гликозиды, эфиры и другие производные, отличающиеся по своим химическим и фармакологическим свойствам.

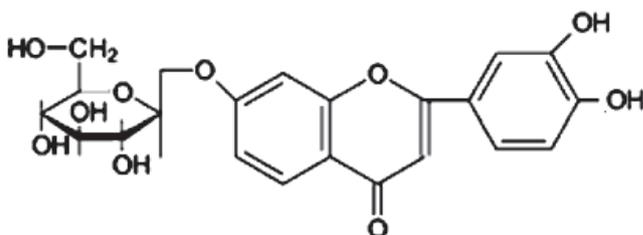
При исследовании сырья указанных видов *Veronica* методом двумерной хромато-

азотистые вещества основного характера и иридоиды.

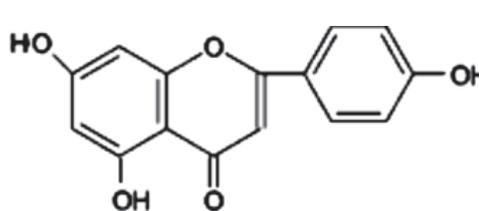
Основными действующими веществами в сырье растений являются флавоноиды группы флавона [6, 8, 13], составляющие комплекс полифенольных соединений. Химическая структура производных флавона – флавоноидов включает два ароматических кольца, соединенных друг с другом трехуглеродным фрагментом ($C_6-C_3-C_6$):



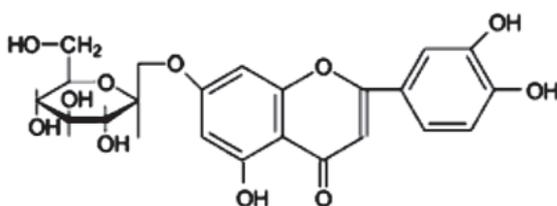
графии на бумаге в растениях обнаружены флавоноиды (до 16 соединений) и фенолкарбоновые кислоты (до 9 веществ). При этом нами [6, 8, 15] выделены и идентифицированы основные флавоноиды вероник: лютеолин (5,7,3',4'-тетраоксифлавоны), апигенин (5,7,4'-триоксифлавоны), апигенин-7- β -D-глюкуронид; цинарозид или лютеолин-7-0- β -D-глюкопиранозид (5, 3', 4'-триоксифлавоны-7-0- β -D-глюкопиранозид).



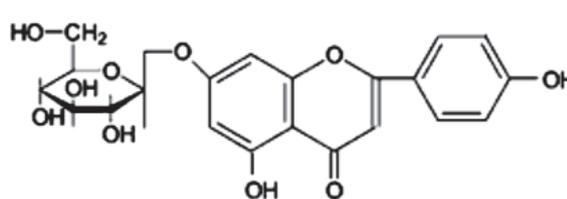
Лютеолин-7-глюкозид
(5, 7, 3', 4'-тетраоксифлавоны)



Апигенин (5, 7, 4'-триоксифлавоны)



Цинарозид (лютеолин-7-0- β -D-глюкопиранозид или 5, 3', 4'-триоксифлавоны-7-0- β -D-глюкопиранозид)



Гликозид апигенина
(апигенин-7- β -D-глюкуронид)

Определение суммы флавоноидов в сырье показало незначительное повышение их содержания в растениях, собранных в степной зоне Южного Предуралья. Наибольшее количество флавоноидов извлекается при использовании в качестве экстрагента 40 и 70%-го этанола. В экстрактах из травы

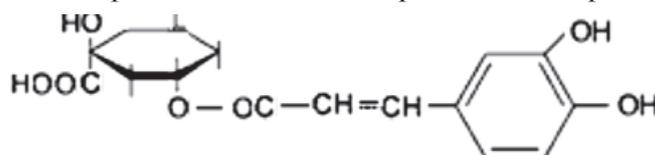
V. officinalis обнаружено шесть основных веществ флавоновой природы, в *V. incana* – пять, а в *V. spicata* – семь соединений. Установлено, что основными соединениями в сухих экстрактах являются: лютеолин, апигенин и их гликозиды. Таким образом, исследование содержания суммы флаво-

ноидов и фенолкарбоновых кислот в препаратах из травы видов *Veronica* позволяет утверждать, что оптимальным экстрагентом является 40% этанол (таблица).

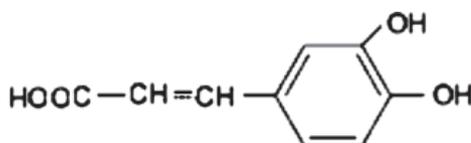
Для многих флавоноидов установлено антиоксидантное, противомикробное, противовоспалительное, противораковое действие [1, 3, 12, 13, 14, 18, 19], что обусловило широкое применение флавоноидсодержащего растительного сырья для производства лечебных и профилактических средств. Идентифицированные нами в растениях рода *Veronica* флавоноиды обладают выраженным противовоспалительным и противовирусным действием

и противовирусным действием [1, 15], антиоксидантной активностью и способствуют восстановлению функциональной активности иммунной системы [18, 19].

Кроме флавоноидов в исследуемых растениях нами выявлены фенолкарбоновые кислоты, четыре из которых идентифицированы как кофейная, хлорогеновая, неохлорогеновая и феруловая кислоты [8, 18]. Но в сухих препаратах рода *Veronica* L. выявлены только три фенолкарбоновые кислоты, две из которых идентифицируются как хлорогеновая и кофейная:



Хлорогеновая кислота



Кофейная кислота

Оценка антимикробного действия препаратов – сухих экстрактов из видов рода *Veronica* L. и содержание в них флавоноидов

№ п/п	Виды <i>Veronica</i> L.	Используемый экстрагент	Вид микроба и активность		Содержание суммы флавоноидов (%)
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
1	<i>Veronica officinalis</i> L.	Вода	1:80	н/д*	1,04
		20% этанол	1:1000	н/д	2,49
		30% этанол	1:4000	н/д	4,76
		40% этанол	1:4000	н/д	5,62
		70% этанол	1:200	н/д	3,13
		90% этанол	1:100	н/д	2,68
2	<i>V. spuria</i> L.	Вода	1:80	н/д	1,02
		20% этанол	1:4000	н/д	5,98
		30% этанол	1:2000	н/д	3,53
		40% этанол	1:8000	н/д	7,67
		70% этанол	1:2000	н/д	3,66
		90% этанол	1:4000	н/д	5,82
3	<i>V. spicata</i> L.	Вода	1:100	н/д	1,12
		20% этанол	1:1000	н/д	2,61
		30% этанол	1:1000	н/д	2,83
		40% этанол	1:2000	н/д	3,92
		70% этанол	1:1000	н/д	2,14
		90% этанол	1:1000	н/д	2,36
4	<i>V. incana</i> L.	Вода	1:80	н/д	0,96
		20% этанол	1:1000	н/д	2,67
		30% этанол	1:1000	н/д	2,48
		40% этанол	1:4000	н/д	5,87
		70% этанол	1:2000	н/д	3,52
		90% этанол	1:1000	н/д	2,56

Примечание. * – отсутствие активности (экстракты недейтельны).

Фенолкарбоновые кислоты широко распространены в растениях и обладают антибактериальным и противовоспалительным действием [3, 21, 27], выполняют функции антиоксидантов и оказывают противоопухолевое действие [18, 19].

Помимо флавоноидов и фенолкарбоновых кислот в сухих экстрактах из травы видов *Veronica* обнаружены: иридоиды группы аукубина, азотсодержащие вещества (холин), дубильные вещества, незначительное количество сердечных гликозидов, кумаринов и сапонинов.

Все отмеченное позволило нам считать обоснованным применение видов *Veronica* в современной фитотерапии в связи, с чем нами было проведено исследование антимикробного действия сухих экстрактов, изготовленных на основе сырья указанных растений.

Результаты проведенных опытов показали, что сухие экстракты из из травы видов *Veronica: V.spicata, V.officinalis, V.incana, V.spuria* обладают антимикробной активностью только в отношении *St. aureus*, а в отношении *E. coli* – они недействительны (таблица). Сухие экстракты из травы перспективных видов *Veronica (V. incana, V. officinalis, V. spicata, V. spuria)*, полученные при использовании в качестве экстрагента 40%-го этилового спирта, содержат максимальное количество суммы флавоноидов (от 3,92 до 7,67%) и обладают наибольшей антимикробной активностью, но только в отношении грамположительных микроорганизмов (до 1:8000). Самое высокое содержание суммы флавоноидов и наибольшая активность отмечены для препаратов из травы *V. spuria L.* (1:8 000), полученных экстракцией 40%-м этанолом (таблица).

Экстракты, полученные с помощью дистиллированной воды, обладают слабой активностью в отношении грамположительных микроорганизмов (*St. aureus*) и недействительны в отношении *E.coli* (таблица).

Выводы

1. Эффективность антимикробного действия сухих экстрактов из сырья видов *Veronica L.* зависит от наличия биологически активных веществ и их количественного содержания.

2. Препараты, полученные из сырья (травы) видов *Veronica L.* методом турбоэкстракции, характеризуются высоким содержанием суммы флавоноидов и проявляют высокую антимикробную активность *in vitro* в отношении *Staphylococcus aureus*.

3. Сухие экстракты из травы видов *Veronica L.* показали отсутствие антими-

кробной активности *in vitro* в отношении *Escherichia coli*.

4. Высокая антимикробная активность сухих экстрактов из травы видов *Veronica officinalis L., V. spuria L., V. spicata L.* и *V. incana L.* в отношении грамположительных микроорганизмов представляет практический интерес для разработки на их основе антибактериальных и противовоспалительных лекарственных средств.

Список литературы

1. Бандюкова В.А. Антимикробная активность флавоноидов некоторых видов цветковых растений // Растительные ресурсы. – 1987. – Т. 23, Вып. 4. – С. 607-611.
2. Бобылев Р.В. Получение жидкого экстракта методом противоточной вихревой экстракции // Биофармацевтические аспекты получения и назначения лекарств. – М.: Сб. науч.тр. 1-го Моск. мед. ин-та, 1971. – С. 48-49.
3. Гольдберг Е.Д. Препараты растений в комплексной терапии злокачественных новообразований / Е.Д. Гольдберг, Е.П. Зуева. – Томск: Изд-во Томск ун-та, 2000. – 129 с.
4. Государственная Фармакопея СССР. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1990. – Вып. 2 – 400 с.
5. Государственный реестр лекарственных средств. Т. 1. – М.: Минздрав России. Фонд фарм. информации, 2001. – 1277 с.
6. Гусев Н.Ф. Флавоноиды растений рода *Veronica L.* / Н.Ф. Гусев, Н.М. Гусева, С.В. Теслов // Химия природных соединений. – 1974. – Т. 4 – С. 521.
7. Гусев Н.Ф. К вопросу о новых перспективных видах лекарственного растительного сырья в южных областях России / Н.Ф. Гусев, О.Н. Немерешина // Известия ОГАУ. – 2008 – № 3(19). – С. 258-261.
8. Гусев Н.Ф. К исследованию флавоноидов *Veronica incana L.* Степного Предуралья. / Н.Ф. Гусев, Немерешина О.Н. // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2005. – № 12. – С. 96-99.
9. Еленевский А.Г. Систематика и география вероник СССР и прилегающих стран. – М.: Наука, 1978. – 258 с.
10. Кашкин П.Н. Руководство по медицинской микологии / П.Н. Кашкин, Н.Д. Шеклаков. – М.: Медицина, 1978. – 325 с.
11. Кьосев П.А. Полный справочник лекарственных растений. – М.: Изд-во Эксмо, 2005. – 992 с.
12. Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. – М.: Нива России, 1992. – 478 с.
13. Муравьева Д.А. Фармакогнозия: учебник / Д.А. Муравьева, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. – М.: Медицина, 2002. – 4-е изд., перераб., доп. – 656 с.
14. Насыров Х.М. Антимикробные свойства некоторых растений семейства норичниковых / Х.М. Насыров, Н.Н. Ворошилова, Ю.А. Глухарев // Дикорастущие и интродуцируемые полезные растения в Башкирии. – Уфа, 1971. – Вып. 3. – С. 112-116.
15. Немерешина О.Н. О некоторых аспектах рационального использования лекарственных растений Предуралья / О.Н. Немерешина, Н.Ф. Гусев, В.Н. Зайцева // Известия ОГАУ. – 2009. – № 2(22). – С. 308-311.
16. Решетникова М.Д. Химический анализ биологически активных веществ лекарственного растительного сырья и продуктов животного происхождения: учебное пособие / М.Д. Решетникова, В.Ф. Левинова, А.В. Хлебников и др.; под ред. проф. Г.И. Олешко. – Пермь: 2004. – 335 с.
17. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М., 2005. – 832 с.
18. Arora A. Modulation of liposomal membrane by flavonoids and isiflavonoids / Arch.Biochem., Biopsis. – 2000. – vol. 373, №1. – P. 102-109.
19. Rice-Evans C. Structure – antioxidant activity relation-skips of flavonoids and phenolic acids / C. Rice-Evans, N.J. Miller, G. Paganga // Free Radical. Biol.Med. – 1996. – vol. 20, №7. – P. 933-956.