

## АНТИМИКРОБНАЯ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ ТРАВЫ *SANGUISORBA OFFICINALIS* L.

Егорова Н.О.<sup>1</sup>, Мальцева Е.М.<sup>2</sup>, Егорова И.Н.<sup>1</sup>, Егорова О.Н.<sup>3</sup>, Серикова Н.Б.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, e-mail: nir\_kem@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Кемерово, e-mail: elen-malceva@yandex.ru;

<sup>3</sup>ГАУЗ КО «ОКБСМП им. М.А. Подгорбунского», Кемерово, e-mail: gkb-3@mail.ngs.ru

В статье изложены результаты исследований по оценке антимикробной и антирадикальной активности сухих экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L., полученных различными методами экстракции. Антимикробную активность оценивали с помощью метода диффузии в агар. В качестве тестовых культур были использованы грамотрицательные и грамположительные микроорганизмы, взятые из музея живых культур бактериологической лаборатории и из различных биологических локусов пациентов отделения реанимации ГАУЗ КО «ОКБСМП им. М.А. Подгорбунского» города Кемерово: *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* (BLRS), *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Proteus vulgaris*, дрожжеподобные грибы – *Candida albicans*. Корреляция между антирадикальной активностью и составом полифенольного комплекса травы кровохлебки показала, что основными соединениями, определяющими активность, являются дубильные вещества гидролизуемого типа. Все анализируемые извлечения активны в отношении *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. Наибольшее угнетение роста штаммов *Klebsiella pneumoniae* (BLRS) и *Enterococcus faecium* показали извлечения, полученные методом циркуляционной экстракции. В отношении *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus vulgaris* антимикробная активность отсутствовала. Было выявлено, что наиболее широким спектром антибактериальной активности и высокой антирадикальной активностью обладает экстракт травы кровохлебки, полученный методом циркуляционной экстракции 70% этанолом.

Ключевые слова: *Sanguisorba officinalis* L., антимикробная активность, антирадикальная активность.

## ANTIMICROBIAL AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF DRY EXTRACTS OF *SANGUISORBA OFFICINALIS* L. HERB

Egorova N.O.<sup>1</sup>, Maltseva E.M.<sup>2</sup>, Egorova I.N.<sup>1</sup>, Egorova O.N.<sup>3</sup>, Serikova N.B.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Human Ecology of the Siberian Branch of the RAS, e-mail: nir\_kem@mail.ru;

<sup>2</sup>Kemerovo State Medical University, e-mail: elen-malceva@yandex.ru;

<sup>3</sup>State Emergency Hospital of Kemerovo Region named after M. A. Podgorbunskogo, e-mail: gkb-3@mail.ngs.ru

The results of study of evaluation of the antimicrobial and antiradical activity of dry extracts of *Sanguisorba officinalis* L. herb obtained by various extraction methods presents in this article. Antimicrobial activity was assessed by using the diffusion method in agar. Gram-positive and Gram-negative microorganisms taken from the museum of live cultures of bacteriological laboratory and from various biological loci of patients of the intensive care unit State Emergency Hospital of Kemerovo Region named after M. A. Podgorbunskogo: *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae* (BLRS), *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Proteus vulgaris* and yeast-like mushrooms – *Candida albicans*, were used as test cultures. The correlation between the antiradical activity and the composition of the polyphenol complex of the *Sanguisorba officinalis* L. herb showed that the main compounds determine activity are tannins of hydrolysable type. All analyzed extracts are active against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. The greatest inhibition of the growth of strains of *Klebsiella pneumoniae* (BLRS) and *Enterococcus faecium* showed extractions obtained by the method of circulation extraction. *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus vulgaris* antimicrobial activity was absent. It was found that the most extensive spectrum of antibacterial activity and high antiradical activity is possessed by the herb extracts obtained by circulation extraction with 70% ethanol.

Keywords: *Sanguisorba officinalis* L., antimicrobial activity, antiradical activity.

В связи с формированием штаммов микроорганизмов с множественной антибиотикорезистентностью все больший интерес вызывают новые лекарственные средства на основе растительных биологически активных соединений (БАС), обладающих антимикробным действием. Согласно литературным данным, среди БАС, сочетающих

низкую токсичность со способностью эффективно действовать на патогенную и условно патогенную микрофлору, ведущую роль играют полифенольные соединения (дубильные вещества, проантоцианидины, катехины, флавоноиды) [1; 2].

Кровохлебка лекарственная (*Sanguisorba officinalis* L.) сем. Розовых – *Rosaceae*, широко известное многолетнее растение, подземные органы которого применяются в официальной и традиционной медицине народов в России, в странах Европы, Северной Африки, Северной Америки, Китае и Азии. Водные и спиртовые извлечения используются внутрь для лечения кишечных инфекций и язвы двенадцатиперстной кишки, при геморрое, меноррагиях и наружно для лечения ран, язв и ожогов, гингивитах, стоматитах, для остановки кровотечений [3; 4].

Многочисленные исследования показывают, что подземная и надземная части кровохлебки лекарственной обладают выраженной фармакологической активностью, которая связана с наличием дубильных веществ, эллаготанинов, проантоцианидинов, катехинов, флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, тритерпеновых гликозидов, производных олеаноловой и урсоловой кислот и полисахаридов [5]. Полифенольный комплекс травы обладает антиоксидантной и антирадикальной активностью [6].

Анализ зарубежной литературы свидетельствует о выраженных антимикробных свойствах кровохлебки лекарственной, произрастающей в Болгарии, Армении, Китае [4; 7-10]. Обнаружено, что водные, метанольные извлечения из подземной и надземной части растения активны в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*) и грамотрицательных (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*) микроорганизмов в МИК = 0,07-2,5 мг/мл [4]. Другие исследования [7] показывают отсутствие активности метанольных и ацетоновых извлечений травы кровохлебки в отношении ампициллин- и канамицин-резистентного штамма *Escherichia coli* и высокую активность в отношении штаммов *Escherichia coli* M-17 и *Staphylococcus aureus* MDS 5233 в концентрации 500 мкг/мл.

В работе [8] показано, что водные, метанольные, хлороформные, ацетоновые и гексановые извлечения из надземной части кровохлебки угнетают рост *Pseudomonas aeruginosa* GRP3 (VKPHB-82-5), *Staphylococcus aureus* WDCM 5233, *Bacillus subtilis* WT-A1 и дрожжеподобные грибы *Candida albicans* 174, *Candida quilliermondii* HP-17. Этанольные извлечения из корневища и травы растения показали наивысшую активность в отношении *Bacillus cereus* в МИК 15,63 и 62,50 мг/мл соответственно [9]. Описан ингибирующий эффект 95% этанольного экстракта подземной части кровохлебки лекарственной на рост *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606 [10].

Таким образом, перспективность изучения антимикробной активности извлечений

травы кровохлебки лекарственной в целях дальнейшего расширения возможностей ее применения в медицинской практике не вызывает сомнения.

**Цель работы** - скрининговое изучение состава полифенольного комплекса, антимикробной и антирадикальной активности *in vitro* спиртовых извлечений травы кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.), полученных различными методами экстракции.

**Материал и методы.** Траву кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.) собирали во время цветения в июле-августе 2016 года в Топкинском районе Кемеровской области. Сырье сушили до воздушно-сухого состояния, измельчали до размера частиц 2 мм, упаковывали в пакеты из крафт-бумаги и хранили в сухом прохладном месте.

Для получения сухих экстрактов использовали метод мацерации и варианты циркуляционной экстракции. В первом случае сырье экстрагировали 70% спиртом этиловым в соотношении 1:10 в течение 10 дней (КР-I). Во втором случае сырье помещали в аппарат Сокслета, неполярные соединения экстрагировали хлороформом, затем экстракцию проводили 70% спиртом этиловым (КР-II). В третьем – сырье экстрагировали 70% этанолом в аппарате Сокслета (КР-III). Полученные извлечения концентрировали и сушили в сушильном шкафу при температуре не выше 50 °С до сухого остатка (влажность не более 5%).

Количественное содержание суммы полифенолов в исследуемых экстрактах определяли спектрофотометрическим методом с реактивом Folin-Ciocalteu [6; 11] в пересчете на танин. Содержание флавоноидов (ФВ) в исследуемых экстрактах определяли спектрофотометрическим методом, по реакции образования окрашенных комплексов с 5% спиртовым раствором алюминия хлорида [12]. Содержание суммы проантоцианидинов (ПАЦ) в исследуемых извлечениях проводили модифицированным методом Porter [6] в пересчете на цианидина хлорид.

Антирадикальную активность определяли методом, основанным на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) [6]. Для каждого исследуемого экстракта был построен график зависимости антирадикальной активности от концентрации (мкг/мл) и проведен корреляционно-регрессионный анализ. Результат выражен величиной  $I_{c50}$ , это концентрация экстрактов, приводящая к ингибированию 50% радикалов DPPH. Спектрофотометрические исследования проводили на фотометре КФК-3 (Россия) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 10 мм. Все измерения выполнены в трехкратной повторности. Статистическую обработку результатов измерения проводили согласно требованиям ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента». Корреляционно-регрессионный

анализ выполнен с применением стандартной программы Microsoft Office Excel 2010.

Антимикробную активность полученных извлечений изучали методом диффузии в агар. Навески полученных сухих экстрактов растворяли в 30% этаноле. Для каждого образца готовили три разбавления с концентрацией 1,0; 0,5 и 0,1%. В качестве тест-микроорганизмов использовали наиболее распространенные возбудители гнойно-воспалительных заболеваний, относящихся к патогенным и условно патогенным микроорганизмам: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Proteus vulgaris* и дрожжеподобные грибы – *Candida albicans*. Тестовые микроорганизмы взяты из музея живых культур бактериологической лаборатории ГАУЗ КО «ОКБСМП им. М.А. Подгорбунского» г. Кемерово и из различных биологических локусов пациентов отделения реанимации того же лечебного учреждения.

Посев микроорганизмов был проведен в чашках Петри на 20 мл среды Мюллера-Хитонас добавлением 2 мл исследуемых растворов. В качестве положительного контроля были использованы коммерческие антибиотики широкого спектра действия: ампициллина тригидрат (50 мг/мл), гентамицина сульфат (2 мг/мл), доксициклин (10 мг/мл), антибактериальный сульфаниламидный препарат – сульфадимезин (25 мг/мл) и противомикробный препарат нитрофуранового ряда - энтерофурил (10 мг/мл). Опытные и контрольные посева инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 часов и визуально оценивали интенсивность роста микроорганизмов.

**Результаты и обсуждение.** Выделение суммы полифенолов из травы кровохлебки лекарственной проводилось 70% этанолом, так как именно этот экстрагент обеспечивает наиболее высокий выход экстрактивных соединений фенольного характера из сырья [11]. В настоящей работе экстракцию проводили различными методами: мацерации (КР-I), циркуляционной экстракции в аппарате Сокслета с предварительным отделением липофильной фракции из сырья хлороформом (КР-II) и циркуляционной экстракции в аппарате Сокслета (КР-III). В полученных экстрактах определено суммарное содержание полифенольных соединений в пересчете на танин, флавоноидов в пересчете на рутин и ПАЦ в пересчете на цианидина хлорид. Результаты определения представлены в таблице 1.

Из полученных данных видно, что КР-III содержит на 30,65% больше полифенолов, чем КР-I, и на 9,2% - чем КР-II. Максимальное содержание флавоноидов обнаружено в КР-II – 4,98±0,06%, что на 18% ниже, чем в КР-I, и 32,7% - чем в КР-III. Выбор способа экстракции практически не оказывает влияние на содержание ПАЦ. Результаты исследования показывают, что максимальное количество дубильных веществ (ДВ) гидролизуемого типа (ДВ = ПФС – ФВ – ПАЦ) содержится в КР-III - 82,90±0,92%, в КР-I и КР-II содержание этой группы БАС составляет 74,02±0,08% и 75,02±0,54% соответственно. Таким образом, способ

экстракции влияет на содержание общей суммы полифенолов и в меньшей степени - на количество экстрагируемых отдельных групп фенольных соединений.

Таблица 1

Содержание компонентов полифенольного комплекса в сухих экстрактах  
травы *Sanguisorba officinalis* L. и их антирадикальная активность

Содержание, %	Исследуемые извлечения кровохлебки		
	КР-I*	КР-II*	КР-III*
Сумма полифенольных соединений (ПФС)	21,63±1,12	25,86±1,01	28,26±1,12
Флавоноиды (ФВ)	4,08±0,05	4,98±0,06	3,35±0,175
Проантоцианидины (ПАЦ)	1,54±0,12	1,48±0,04	1,48±0,14
IC <sub>50</sub> , мкг/мл	80,01	51, 11	28,57
IC <sub>50</sub> танина, мкг/мл	6		

\*Достоверность  $p < 0,05$ .

Антирадикальная активность изучаемых экстрактов, выраженная как способность ингибировать 50% свободных радикалов DPPH, представлена в таблице 1. Большую активность проявил экстракт КР-III ( $IC_{50} = 28,57$  мкг/мл). Антирадикальная активность КР-III выше в 2,80 и 1,79 раза, чем у экстрактов КР-I и КР-II соответственно. Однако в сравнении со стандартным антиоксидантом танином, представляющим смесь ДВ гидролизуемого типа, антирадикальная активность КР-III была меньше в 4,76 раза. Таким образом, наблюдается положительная корреляция между антирадикальной активностью и содержанием ДВ гидролизуемого типа в исследуемых экстрактах.

Антимикробную активность изучали на двух музейных штаммах грамположительных (*Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecium*) и трех штаммах грамотрицательных бактерий (*Klebsiella pneumonia* (BLRS), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) и дрожжеподобных грибах – *Candida albicans*. Все изученные экстракты в исследуемых концентрациях показали выраженную антимикробную активность в отношении всех бактерий. Результаты изучения влияния различных разведений изучаемых экстрактов на рост микроорганизмов, выделенных из различных биологических локусов пациентов отделения реанимации, представлены в таблице 2.

Полученные данные показывают, что экстракты травы кровохлебки проявили умеренную антимикробную активность в отношении следующих штаммов микроорганизмов: *St. aureus* (MRSA), *K. pneumonia* (BLRS), *P. aeruginosa*, *E. faecium* и дрожжеподобных грибов – *C. albicans*. В отношении *P. aeruginosa* и *Pr. vulgaris* антимикробная активность отсутствует.

Таблица 2

Влияние экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L. на рост штаммов микроорганизмов, выделенных из биологических локусов пациентов отделения реанимации

Штаммы микроорганизмов	Исследуемые концентрации экстрактов (мг/мл)								
	КР-I			КР-II			КР-III		
	20	10	2	20	10	2	20	10	2
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	±	±	+	±	±	+	±	±	+
<i>Klebsiela pneumonia</i> BLRS	+	+	+	±	±	+	±	±	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecium</i>	±	+	+	+	+	+	±	±	±
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	±	+	+	±	±	+	±	±	+

Примечания: «±» – слабый рост бактерий; «+» – сплошной рост бактерий в присутствии препарата. BLRS - бета-лактамаза расширенного действия; MRSA - метициллинрезистентные стафилококки.

Приведенные в таблице 2 данные свидетельствуют о том, что все изучаемые экстракты в концентрации 20 и 10 мг/мл независимо от способа получения проявили антимикробную активность по отношению к грамположительным бактериям *St. aureus*. Антимикробная активность изученных экстрактов сопоставима с активностью гентамицина сульфата в концентрации 2 мг/мл, при этом ампициллин (50 мг/мл), сульфадимезин (25 мг/мл) и энтерофурил (10 мг/мл) не влияют на рост данного микроорганизма (табл. 3). В отношении *K. pneumoniae* BLRS умеренное подавление роста отмечалось у экстрактов КР-II и КР-III в концентрации 20 и 10 мг/мл, что сопоставимо с действием энтерофурила в концентрации 10 мг/мл (табл. 3). КР-I во всех разведениях не оказывает влияния на рост *K. pneumoniae* BLRS.

Таблица 3

Влияние препаратов контроля на рост штаммов микроорганизмов, выделенных из биологических локусов пациентов отделения реанимации

Штаммы микроорганизмов	Препараты контроля				
	Ампициллина тригидрат (50 мг/мл)	Гентамицина сульфат (2 мг/мл)	Доксициклин (10 мг/мл)	Сульфадимезин (25 мг/мл)	Энтерофурил (10 мг/мл)
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	+	±	–	+	+
<i>Klebsiela pneumonia</i> BLRS	+	+	-	+	±
<i>Pseudomonas</i>	+	±	+	+	+

<i>aeruginosa</i>					
<i>Enterococcus faecium</i>	±	-	-	±	±
<i>Proteus vulgaris</i>	±	±	+	+	±
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	+

Примечания: «-» - отсутствие роста бактерий, «±» – слабый рост бактерий; «+» – сплошной рост бактерий. BLRS - бета-лактамаза расширенного действия; MRSA - метициллинрезистентные стафилококки.

Наиболее выраженную антимикробную активность в отношении *E. faecium* проявляет экстракт КР-III в концентрации 2, 10 и 20 мг/мл. Подавление роста *E. faecium* КР-III сходно с действием ампициллина (50 мг/мл), сульфадимезина (25 мг/мл) и энтерофурила (10 мг/мл).

### Вывод

Проведенное исследование указывает на связь между антирадикальной активностью и составом полифенольного комплекса экстрактов травы кровохлебки, полученных разными способами. Представленные результаты показали, что все исследуемые экстракты в концентрации 20 и 10 мг/мл умеренно задерживают рост *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. Наибольшее угнетение роста штаммов *Klebsiela pneumonia* (BLRS) и *Enterococcus faecium* продемонстрировали экстракты из травы кровохлебки, полученные методом циркуляционной экстракции (КР-III). В отношении *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus vulgaris* антимикробная активность отсутствует.

Таким образом, наибольшее влияние на угнетение роста изученных штаммов микроорганизмов и проявление антирадикальной активности показывает экстракт травы кровохлебки, полученный методом циркуляционной экстракции 70% этанолом.

### Список литературы

1. Cioch M., Satora P., Skotniczny M. et al. Characterisation of Antimicrobial Properties of Extracts of Selected Medicinal Plants // Polish Journal of Microbiology, 2017, vol. 66, no. 4, pp. 463-472.
2. Cowan M.M. Plant Products as Antimicrobial Agents // Clinical Microbiology reviews, 1999, vol. 12, no. 4, pp. 564-582.
3. Дикорастущие полезные растения России / отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. - С. 497-498.
4. Gawron-Gzella A., Witkowska-Banaszczak E., Bylka W. et al. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Sanguisorba officinalis* L. // Extracts. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2016, vol. 50, no. 4, pp. 244-249.
5. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный

состав и биологическая активность / отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – Т. 2. - С. 239-240.

6. Антиоксидантная и антирадикальная активность *in vitro* экстрактов травы *Sanguisorba officinalis* L., собранной в различные фазы развития / Е.М. Мальцева [и др.] // Медицина в Кузбассе. – 2017. - Т. 16. - № 2. – С. 32-38.

7. Ginovyan M.M. Effect of heat treatment on antimicrobial activity of crude extracts of some Armenian herbs. Proceedings of the Yerevan state university // Chemistry and Biology, 2017, vol. 51, no 2, pp. 113–117.

8. Ginovyan M., Petrosyan M., Trchounian A. Antimicrobial activity of some plant materials used in Armenian traditional medicine // BMC Complementary and Alternative Medicine, 2017, 17:50. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1573-y>.

9. Janovská D., Kubikova K., Kokoska L. Screening for antimicrobial activity of some medicinal plants species of traditional Chinese medicine // Czech J. Food Sci., 2003, vol. 21, no 3, pp. 107–110.

10. Cheng-Hong Yang, Hsueh-Wei Chang, Ho-Yang Lin, Li-Yeh Chuang. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities from 28 Chinese Herbal Medicines // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2013, vol. 2, no. 1, pp. 294-305.

11. Егорова Н.О. Содержание полифенолов в надземной части кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.) // Молодая фармация – потенциал будущего: тезисы докл. Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием (Санкт-Петербург, 20-21 апреля 2011 г.). – СПб., 2011. – С. 42-44.

12. Мальцева Е.М., Егорова Н.О., Егорова И.Н. Количественное определение суммарного содержания флавоноидов в траве кровохлебки лекарственной // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2011. - № 3/1. - С. 68.