

**Антимикробная активность 20-гидроксиэкдизона, шафтозида и бутанольных комплексов некоторых видов рода *Silene* семейства Caryophyllaceae**

Зибарева Л.Н.\* , Филоненко Е.С.\* , Андреева И.С.\*\* , Соловьянова Н.А.\*\* , Нестерова С.В.\*\*\*

\* *Национальный исследовательский Томский государственный университет, Сибирский ботанический сад Россия, 634050, Томская область, Томск, пр. Ленина, 36.*

\*\* *ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии „Вектор“, Россия, 630559, Новосибирская область, рп Кольцово*

\*\*\* *Россия 690024, Ботанический сад-институт ДВО РАН, г. Владивосток, ул. Маковского 142*

Проведен скрининг бутанольных экстрактов 9 видов семейства Caryophyllaceae на антимикробную активность на примере 17 видов штаммов микроорганизмов. Показана ингибирующая активность 7 экстрактов в отношении ряда патогенных штаммов, относящихся к видам *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*. Наиболее эффективно исследуемые экстракты действовали на бактерии *Bacillus cereus* и *Bacillus subtilis*. Установлено, что все исследованные виды растений содержат экдистероиды и флавоноиды. Выделенные индивидуальные соединения, содержащиеся во всех исследованных видах, проявили антимикробное действие на штаммы ряда бактерий: экдистероид 20-гидроксиэкдизон подавлял рост штамма *P. mirabilis*, тогда как флавоноид шафтозид ингибировал штаммы бактерий *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *P. mirabilis*, *M. smegmatis*. Антимикробному действию экстрактов в условиях опыта не подвержены грамотрицательные бактерии *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Определение антимикробной активности проводили методами – диффузионным и совместным инкубированием экстрактов, соединений растений и клеток тест-штаммов микроорганизмов в жидкой питательной среде LB при соотношении образец:среда 1:2 и 1:1. Увеличение концентрации вторичных метаболитов экдистероидов и флавоноидов в экспериментах с бутанольными комплексами веществ с соотношением образец:среда 1:1 повлекло усиление антимикробной активности вплоть до полного ингибирования грамположительных бактерий *B. subtilis* и *B. cereus* экстрактами видов растений *Silene graefferi*, *S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. linicola*, *S. jensenseensis* *S. viridiflora* (семена) и индивидуальным шафтозидом.

*Ключевые слова:* антимикробная активность, Caryophyllaceae, *Silene*, флавоноиды, экдистероиды.

Исследование выполнено в рамках проектной части государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в сфере научной деятельности (проект № FSWM № МК-2021.0007).

### **Введение**

Растения, синтезируя множество биологически активных веществ различной химической природы, представляют собой огромный ресурс для разработки новых лекарственных средств, в том числе и антимикробных. Использование огромнейшего накопленного потенциала защитного механизма растений от микроорганизмов путем синтеза вторичных метаболитов способствовало бы созданию эффективных средств антимикробного действия.

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам в последние десятилетия представляет собой растущую нерешенную медицинскую проблему во всем мире. Антибиотики и синтетические препараты часто

отличаются быстро наступающей адаптацией, индивидуальной непереносимостью и другими отрицательными свойствами. В связи с этим поиск новых растительных источников вторичных метаболитов (ВМР) антимикробного действия представляется актуальным, так как дополнительные сведения об антибиотической активности дикорастущих и культивируемых растений вносят важный вклад в банк данных по исследованию этой проблемы. Особенность экстрактов из лекарственных растений заключается в определенном соотношении биологически активных веществ [1–4], которые действуют мягче, не изменяют резко всю систему химических реакций живой клетки человека, как синтетические.

В настоящее время известно, что некоторые растения обладают антибактериальными свойствами благодаря ВМР. В зависимости от химической структуры и количества ВМР могут оказывать влияние, как на грамположительные, так и на грамотрицательные бактерии, а также действовать совокупно на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы одновременно [5]. Показано, что различные ВМР способны, подобно антибиотикам, нарушать целостность клеточной стенки и цитоплазматической мембраны бактерий или грибов; ингибировать работу системы эффлюкса; нарушать синтез РНК и ДНК в клетке; вызывать коагуляцию компонентов цитоплазмы; угнетать метаболизм клетки путём инактивации ферментов бактерий ( $\beta$ -лактамаза) [6]. Применение некоторых флавоноидов приводило к угнетению репликации ДНК *Pseudomonas vulgaris*, в то время как в пробах со *Staphylococcus aureus* ингибировалась транскрипция [7, 8].

Благодатными источниками антимикробных и противогрибковых средств могут служить многочисленные ВМР растений рода *Silene* (семейство Caryophyllaceae) – флавоноиды, экидистероиды и др., обладающие широким спектром биологического действия. Антимикробная активность видов растений рода *Silene* исследовалась в отношении разных бактерий – *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* Cowan 1, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium smegmatis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus megaterium* и грибов *Rhodotorula rubra*, *Candida albicans* и др. Показано, что этанольный экстракт *Silene parishii* эффективен в отношении *B. subtilis*, частично эффективен на *Candida albicans*, и не имел никакого влияния на *S. aureus* и *K. pneumoniae* [9]. Антимикробная активность экстрактов представителей родов *Silene* исследуется активно особенно в последнее время в Турции, Иране [9-21]. Показано, что виды *Silene arguta*, *S. chlorifolia*, *S. dichotoma* ssp. *sibthorpiana*, *S. vulgaris*, собранные в Турции, проявили антибактериальное действие.

Количество таксонов, антимикробная активность которых была изучена, составляет меньше 5 % от общей численности рода *Silene* (34 вида), насчитывающего 700 видов [22]. Это указывает на перспективы выявления новых источников ВМР в растениях этого рода и действующих веществ, обладающих антимикробной активностью.

Целью настоящего исследования является изучение антимикробной активности бутанольных комплексов и выделенных индивидуальных соединений видов семейства Caryophyllaceae.

## Экспериментальная часть

*Растительный материал.* Растения интродуцированы в Сибирском ботаническом саду Томского государственного университета (СибБС ТГУ). Семена получены из ботанических садов Зап. Европы: *Silene viridiflora* L.Sp.Pl. (Клуж-Напока, Румыния), *S. graefferi* Guss (Грац, Австрия), *S. colpophylla* Wrigley, (Париж, Франция), *S. sendtneri* Boiss. (Нанси, Франция), *S. linicola* C.C.Gmelin. и *S. roemerii* Friv., *S. frivaldszkyana* Hampe. (Берлин-Далем, Германия). Некоторые виды собраны в природе – *S. jenseensis* Willd. (Владивосток, Россия), *S. graminifolia* Otth. (Алтай, Россия). *S. chalconica* (L.) E.H.L. Krause (*Lychnis chalconica* L.) является репродукцией СБС ТГУ.

Химический скрининг экстрактов растений на присутствие групп ВМР осуществляли методами тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Предметом химического исследования являлись ВМР флавоноиды и экистероиды, характерные для семейства Caryophyllaceae.

*Экстракция растений.* Массу растительного сырья экстрагировали трижды 70 % этиловым спиртом при нагревании до 55 °С. Концентрированные экстракты, разбавленные водой в соотношении 1:2, очищали от пигментов, затем флавоноиды и экистероиды исчерпывающе извлекали н-бутиловым спиртом. Бутанольные комплексы веществ получали в сухом виде путем удаления экстрагента в вакууме и высушивания на пластинках в сушильном шкафу. Образцы сухих экстрактов растворяли в 5 % этаноле в соотношениях 1:2 и 1:1.

*Выделение флавоноидов и экистероидов.* Выделение индивидуальных соединений из надземной части видов проводили по методике [23]. Флавоноид шафтозид и экистероид 20-гидроксиэкизон идентифицированы методами масс-спектрометрии и ядерно-магнитного резонанса [24-26].

*ВЭЖХ анализ.* Анализ биологически активных веществ выполнен методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на жидкостном хроматографе «Shimadzu LC-20AD» (Япония), диодно-матричный детектор, хроматографическая колонка Perfect Sil Target ODS – 3; 4,6 x 250 мм, размер зерна сорбента – 5 мкм. Элюент А: смесь ацетонитрила, изопропилового спирта (5:2 v/v), элюент В: 0,1 % трифторуксусная кислота. Время анализа 60 мин. Скорость элюирования 1 мл/мин. Режим элюирования: градиент низкого давления; программа градиента: 0-40 мин 15-35% элюент А, 40-60 мин 35% элюент А. Объем пробы 5 мкл. Аналитическая длина волны  $\lambda_{max}$  = 242 нм для регистрации экистероидов и 272 нм – флавоноидов. Идентификацию сигналов на хроматограммах осуществляли сопоставлением времен удерживания и максимумов поглощения компонентов экстрактов и стандартных образцов (Sigma-Aldrich, Lachema; чистота  $\geq 95,0\%$ ). Содержание ВМР рассчитывалось по площадям пиков образца и соответствующих стандартов с помощью калибровочной кривой, построенной с использованием программного обеспечения LC Postrun Calibration Curve. Анализ проводили в трех повторностях, статистические расчеты осуществляли в Microsoft Excel, 2007. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки.

*Определение антибактериальной активности.* В качестве патогенных тест-штаммов микроорганизмов использовали грамположительные, грамотрицательные бактерии и дрожжеподобный гриб *Candida albicans* из состава коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (табл. 1).

Таблица 1. Перечень патогенных штаммов бактерий и дрожжей, используемых в опытах

№№	Колл №	Тест-культура	Гр-реакция	Группа патогенности
1	В-1266	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 №201108	+	4
2	В-330	<i>Streptococcus faecalis</i> 555 В-4426	+	4
3	В-581	<i>Salmonella typhimurium</i> 2606	-	3
4	В-378	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 378 №13 В-4894	-	4
5	В-582	<i>Shigella sonnei</i> 32	-	3
6	В-1348	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> 1700 MRS	+	4
7	В-1349	<i>Staphylococcus aureus</i> 1721 ATCC 43300 MRSA	+	4
8	В-1373	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	4
9	В-1367	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10702	+	4
10	В-1376	<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i> ATCC 6633	+	4
11	В-1267	<i>Proteus mirabilis</i> 160205	-	4
12	В-656	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	4
13	В-1295	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 3a	-	4
14	В-1	<i>Serratia marcescens</i> d	-	4
15	Y-583	<i>Candida albicans</i> 620	+	3
16	В-1351	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1733 MRS	+	4

17	B-836	<i>Mycobacterium smegmatis</i> GK	+	4
----	-------	-----------------------------------	---	---

Антимикробную активность экстрактов определяли диффузионным методом и при совместном инкубировании препаратов и тест-штаммов микроорганизмов в жидкой среде LB (Difco, USA) с последующим титрованием полученных культуральных жидкостей (КЖ) на агаризованной полной среде ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) для установления числа жизнеспособных клеток тест-штаммов (КОЕ/мл).

*Определение антимикробной активности экстрактов диффузионным методом «колодцев».* Чашки Петри с агаризованной средой ГРМ равномерно засеивали суспензией культуры тест-штамма с концентрацией клеток  $1-5 \times 10^5$  КОЕ/мл. В асептических условиях в засеянной агаровой пластинке делали лунки («колодцы»), вносили в каждую по 100 мкл экстракта и помещали в холодильник с температурой 6-9 °С на 18 часов для диффузии экстрактов в агар.

Затем культуры подращивали в термостате при температуре 37 °С в течение 24-48 часов. Толщина агаровой пластинки составляла в среднем 4 мм, диаметр лунки – 8 мм.

*Определение антимикробной активности экстрактов диффузионным методом «капли».* Засеянные аналогичным образом чашки с культурами тест-штаммов выдерживали в течение 10–15 минут при комнатной температуре до подсыхания поверхности и наносили на засеянный агар по 10 мкл экстрактов, далее инкубировали в термостате при 37 °С.

Положительный результат учитывали по наличию зоны угнетения роста вокруг лунок в зоне диффузии экстрактов и в месте нанесения капли экстракта. В качестве контрольного препарата сравнения использовали 0,05 и 0,2 % растворы хлоргексидина.

*Определение антимикробной активности экстрактов при совместном инкубировании с клетками тест-штаммов в жидкой среде LB.* В асептических условиях в пробирках смешивали 100 мкл экстракта, 200 мкл среды LB (соотношение 1:2) и 30 мкл суспензии клеток тест-штамма с концентрацией клеток  $1-5 \times 10^5$  КОЕ/мл, инкубировали подготовленные смеси на термостатированной качалке в течение 24 часов, при температуре 37 °С и 170 об/мин. Контролем служили суспензии тест-штаммов, культивируемые аналогичным образом, где вместо экстрактов добавляли физ. раствор. Концентрацию жизнеспособных клеток в опытных и контрольных суспензиях определяли в начале инкубирования (точка 0), через 4 и 24 часа. Дополнительно провели эксперимент с увеличенной концентрацией экстрактов в среде инкубирования: в пробирках смешивали 100 мкл экстракта, 100 мкл среды LB (соотношение 1:1) и 20 мкл суспензии клеток тест-штамма, затем инкубировали суспензии на термостатированной качалке в аналогичных условиях.

Полученные таким образом культуральные жидкости и их десятикратные разведения, приготовленные с применением физ.раствора, высевали по 10 мкл в 2-3-х повторах на агаризованную среду ГРМ для определения титра жизнеспособных клеток в опытных и контрольных вариантах (КОЕ/мл КЖ).

Эксперимент по определению титров жизнеспособных клеток при культивировании в присутствии этанола показал отсутствие разницы в титрах опыта и контроля. Небольшие расхождения все в пределах ошибки применяемых методик опыта.

### **Обсуждение результатов**

*Диффузионный метод.* Результаты, полученные в условиях опыта при исследовании антимикробного действия экстрактов диффузионным методом приведены в таблице 2. За исключением образцов *S. viridiflora* (семена), флавоноида (шафтозид) и 20-гидроксиэкдизона, в разной степени все остальные экстракты угнетали рост грамположительного тест-штамма *B. cereus* B-1367.

Лизис или ослабление «газонного» роста штамма наблюдали как при нанесении капли экстракта на поверхность, засеянного культурой агара, так и в зоне диффузии экстракта вокруг лунки. Экстракты семян *S.*

*viridiflora*, надземной части *S. linicola* и *S. jenseensis* негативно действовали на размножение штамма *S. aureus* В-1266. Штамм *S. marcescens* В-1 подвержен угнетающему действию экстрактов *S. viridiflora*, флавоноида и в меньшей мере – экстракта надземной части *S. viridiflora*. Образцы *S. chalconica* и флавоноид, нанесенные в виде капли, незначительно подавляли рост штамма *E. coli* В-1373.

Негативное влияние экстрактов *S. graefferi*, *S. jenseensis*, *S. sendtneri*, *S. viridiflora* и ряда других отмечено также на рост бактерии *Mycobacterium smegmatis* GK, являющейся на практике модельным штаммом при изучении действия антибиотических лекарственных препаратов на патогенные микобактерии, включая туберкулезную палочку, экстракта *S. graefferi* – на штамм *C. albicans* Y-583 (табл. 2)

*Совместное инкубирование экстрактов растений и клеток тест-штаммов микроорганизмов в жидкой питательной среде LB при соотношении образец:среда 1:2.* Частично тест-штаммы микроорганизмов инкубированы совместно с экстрактами исследуемых растений в жидкой среде LB при соотношении образец:среда 1:2. Применяемые при этом концентрации экстрактов в среде указаны в таблице 1. Результаты, полученные методом совместного инкубирования, в основном подтвердили результаты диффузионного метода, самым чувствительным к антимикробному действию исследуемых экстрактов по-прежнему были грамположительные бактерии.

Наиболее выраженное угнетающее действие было при контакте тест-штамма *B. cereus* В-1367 с экстрактом *S. viridiflora*, к 24 часам культивирования титр жизнеспособных клеток штамма составлял  $1,2 \times 10^3$  КОЕ/мл, при численности клеток в контроле  $2,6 \times 10^9$  КОЕ/мл. Тест-штамм *B. subtilis* В-1376 на начальной стадии роста оказался чувствителен к экстрактам *S. colpophylla*, *S. sendtneri* и *S. linicola*, титр клеток в сравнении с контролем снизился на 1–2 порядка. К окончанию времени инкубирования (24 часа) титр жизнеспособных клеток в опыте и контроле был уже сходен.

Тест-штамм *S. aureus* В-1266 при длительном (24 ч) совместном инкубировании с исследуемыми экстрактами в жидкой среде со всеми применяемыми вариантами также показал снижение титра в 5-10 раз по отношению к контрольным данным.

Следует отметить аналогичное снижение к 24 часам инкубирования титра клеток грамположительного штамма *S. faecalis* В-330 под воздействием экстракта *S. jenseensis*, штамма *S. epidermidis* В-1351 под влиянием экстракта *S. linicola*.

Действие исследуемых экстрактов на грамотрицательные бактерии в условиях опыта было мало эффективно: так, штамм бактерии *P. mirabilis* В-1267 под воздействием экстракта *S. viridiflora* к 4 часам роста отставал от контроля в титре более чем на два порядка, но к окончанию инкубирования (24 часа роста) эта разница исчезла, титр в опытных вариантах и контрольном составлял сходную величину.

Незначительное снижение титра жизнеспособных клеток штамма *E. coli* В-1373 наблюдали под воздействием экстракта надземной части *S. viridiflora* и индивидуальных соединений – шафтозида и 20-гидроксиэксидона. Остальные, тестируемые в опыте грамотрицательные бактерии, были не чувствительны к действию применяемых экстрактов.

Таблица 2. Определение наличия антибиотического действия бутанольных экстрактов растений и индивидуальных соединений диффузионным методом

Тест-штамм		Экстракт/ зона лизиса или угнетения роста в мм											
Колл. №	Наименование	<i>Sch</i>		<i>Sv 1</i>		<i>Sv 2</i>		Шафтозид		20-гидроксиэкдизон		0,05 % хлоргексидин (контроль)	
		капля	лунка	капля	лунка	капля	лунка	капля	лунка	капля	лунка	капля	лунка
B-1373	<i>E. coli</i>	(7)	0	0	0	0	0	(7)	0	0	0	12	22
B-1	<i>S. marcescens</i>	0	0	7	0	(7)	0	7	0	0	0	11	12
B-1266	<i>S. aureus</i>	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	10	25
B-330	<i>S. faecalis</i>	0	0	(8)	0	0	0	7	0	0	0	12	24
B-1367	<i>B. cereus</i>	(7)	0	0	0	7	15	0	0	0	0	12	22
B-1376	<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	22
Колл. №	Наименование	<i>Sg</i>		<i>Sc</i>		<i>Ss</i>		<i>Sl</i>		<i>Sj</i>		0,05 % хлоргексидин (К)	
B-1266	<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	0	0	(8)	(10)	(7)	11	15	25
B-1367	<i>B. cereus</i>	8	13	8	12	(6)	10	(6)	10	(6)	10	15	25
B-1376	<i>B. subtilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	25
Колл. №	Наименование	<i>S.gram</i>	<i>Sg</i>	<i>Sj</i>	<i>Sc</i>	<i>Ss</i>	<i>Sr</i>	<i>Sl</i>	<i>Sv</i>	<i>Sf</i>	Хлоргексидин (0,2 %)		
У-583*	<i>C. albicans</i>	0	16	0	0	0	0	0	0	0	13		
B-836*	<i>M. smegmatis</i>	0	18	11	11	11	0	0	17	0	24		

Примечание: в скобках – слабо выраженное просветление «газона» культуры в месте нанесения капли или в зоне диффузии экстракта вокруг лунки.

*Sch* – *S. chalconica*, *Sv 1* – *S. viridiflora* семена, *Sv 2* – *S. viridiflora* надз.часть, *Sg* – *S. graefferi*, *Sc* – *S. colpophylla*, *Ss* – *S. sendtmeri*, *Sl* – *S. linicola*, *Sj* – *S. jennisensis*, *S.gram* – *S. graminifolia*, *Sr* – *S. roemerii*, *Sf* – *S. frivaldszkyana*.

\* – Для проведения эксперимента в опытные пробирки с 2,5 мл жидкой среды LB вносили по 150 мкл экстракта и 50 мкл суспензии микроорганизмов в физ.растворе с концентрацией  $1-5 \times 10^6$  кл/мл. В контрольную пробирку вместо растительного экстракта вносили физиологический раствор в том же объеме.

*Совместное инкубирование экстрактов растений и клеток тест-штаммов микроорганизмов в жидкой питательной среде LB при соотношении образец:среда 1:1.*

В целом данные по антимикробной активности экстрактов, выявленные диффузионным методом и при совместном инкубировании экстрактов и клеток тест-штаммов микроорганизмов свидетельствуют о незначительном снижении численности жизнеспособных клеток ряда тест-штаммов под действием исследуемых образцов за исключением экстрактов *S. viridiflora* (надз. часть) и *S. linicola*, флавоноид. Причиной тому могла быть недостаточная концентрация реагентов в инкубационной суспензии.

В связи с этим предположением выполнен вариант опыта с повышенным объемом экстрактов в суспензии для инкубирования (соотношение образец:среда 1:1), полученные результаты представлены в таблице 3. Повышение концентрации экстрактов в среде инкубирования привело к более эффективному их воздействию на грамположительные тест-штаммы микроорганизмов. Все грамположительные тест-штаммы бактерий, используемые в варианте опыта с соотношением экстракта и среды 1:1, в разной степени и на разных этапах инкубирования проявили чувствительность к антимикробному воздействию исследуемых экстрактов (табл. 3). Наиболее высокую чувствительность проявили штаммы *B. subtilis* В-1376 и *B. cereus* В-1367, уже после 4-х часов инкубирования жизнеспособные клетки в культуральных жидкостях полностью отсутствовали, за исключением образца *S. linicola* с титром клеток *B. subtilis* В-1376 составляющем  $1 \times 10^2$  КОЕ/мл при титре клеток в контроле  $1,85 \times 10^6$  КОЕ/мл.

Незначительное снижение численности клеток штаммов *B. cereus* В-1367, *P. mirabilis* В-1267, *S. faecalis* В-330, *S. marcescens* В-1 проявилось при действии экстрактов *S. chalconica*, *S. viridiflora* (семена), в отношении штамма *P. mirabilis* В-1267 отмечено влияние экстракта надземной части *S. viridiflora*, которое выразилось в десятикратном снижении численности на начальной стадии роста и штамма *S. epidermidis* В-1351 через 24 ч инкубирования.

Флавоноид шафтозид не оказал угнетающего действия на грамположительные штаммы В-1367, В-1351, Y-583, однако под его влиянием в нулевой точке и на начальной стадии роста (4 ч) отмечено снижение титра штамма *S. aureus* В-1266 на 1 и 3 порядка, соответственно, с формированием мелких, нетипичных колоний, характеризующихся угнетенным ростом. На начальной стадии роста (4 ч) показано ингибирующее действие флавоноида на грамотрицательные штаммы *P. mirabilis* В-1267, *S. marcescens* В-1 и грамположительные штаммы *S. faecalis* В-330, *M. smegmatis* В-836.

В отношении штаммов *B. subtilis* и *B. cereus* наблюдается наиболее активное действие флавоноида и всех экстрактов, за исключением *S. chalconica* и 20E: через 4-24 часа отмечено полное ингибирование бактерий.

Действие экстрактов на клетки грамотрицательных штаммов в условиях данного варианта опыта практически отсутствовало, исключением явился штамм *S. marcescens* В-1: в начальной точке инкубирования незначительно был снижен титр клеток в вариантах с экстрактами *S. graefferi* и *S. colpophylla*, после 24 ч инкубирования – в вариантах с экстрактами *S. sendtneri* и *S. linicola* (табл. 3)

Следует отметить также, что тест-штамм дрожжей *C. albicans* Y-583, относящийся к виду, ответственному за широкое распространение кандидозов, трудно поддающихся лечению, оказался в условиях данного опыта в вариантах совместного инкубирования не чувствителен ни к одному из исследуемых растительных экстрактов, что соответствует литературным данным о неактивности экстрактов растений родов *Lychnis* и *Silene* относительно кандид [27, 28].

Таблица 3. Определение антимикробной активности экстрактов при совместном инкубировании с клетками тест-штаммов микроорганизмов (соотношение образец:среда 1:1).

Колл.№ штамма	Наименование штамма	Время культивирования	Экстракт / титр клеток тест-штамма (КОЕ/мл)					
			<i>Sch</i>	<i>Sv 1</i>	<i>Sv 2</i>	Шафтозид	20E	Контроль культуры
В-1373	<i>E. coli</i>	0-10 мин	$1,1 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$6,5 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$
		4-4.30 часа	$2,4 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$
		24 часа	$1,1 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$1,8 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$
В-581	<i>S. typhimurium</i>	0-10 мин	$5,1 \times 10^6$	$6,9 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$	$5,7 \times 10^6$	$3,5 \times 10^6$	$3,9 \times 10^6$
		4-4.30 часа	$3,9 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$4,7 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$
		24 часа	$7,5 \times 10^8$	$6,5 \times 10^8$	$1,7 \times 10^9$	$3,5 \times 10^9$	$2,8 \times 10^9$	$2,2 \times 10^9$
В-1266	<i>S. aureus</i>	0-10 мин	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,8 \times 10^4$	$1,4 \times 10^5$	$4,4 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$
		4-4.30 часа	$1,6 \times 10^8$	$3,5 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$ *	$3,6 \times 10^6$ *	$9,0 \times 10^8$	$1,3 \times 10^9$
		24 часа	$2,8 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$4,0 \times 10^9$	$4,0 \times 10^9$	$6,3 \times 10^9$
В-1351	<i>S. epidermidis</i>	0-10 мин	$7,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$
		4-4.30 часа	$8,0 \times 10^6$	$5,1 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$7,1 \times 10^7$	$2,4 \times 10^8$
		24 часа	$1,7 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$	$2,7 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$
В-1367	<i>B. cereus</i>	0-10 мин	$5,5 \times 10^4$	$6,5 \times 10^5$	$1,2 \times 10^4$	$7,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$
		4-4.30 часа	$1,4 \times 10^8$	$1,0 \times 10^3$	0	$9,5 \times 10^7$	$1,9 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$
		24 часа	$2,5 \times 10^8$	$3,5 \times 10^7$	0	$6,5 \times 10^7$	$4,0 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$
В-1376	<i>B. subtilis</i>	0-10 мин	$3,0 \times 10^3$	$5,5 \times 10^5$	$5,5 \times 10^4$	$5,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^5$
		4-4.30 часа	$3,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^6$	0	$6,5 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$
		24 часа	$6,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^9$	0	0	$2,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$
В-1267	<i>P. mirabilis</i>	0-10 мин	$7,0 \times 10^4$	$8,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,0 \times 10^4$	$2,3 \times 10^8$
		4-4.30 часа	$4,0 \times 10^8$	$3,1 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$	$2,4 \times 10^9$	$3,1 \times 10^9$
		24 часа	$6,5 \times 10^9$	$6,0 \times 10^9$	$1,2 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$	$1,0 \times 10^{10}$	$1,1 \times 10^{10}$
В-1	<i>S. marcescens</i>	0-10 мин	$5,2 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$1,3 \times 10^7$	$3,8 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$	$5,5 \times 10^6$
		4-4.30 часа	$4,7 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$3,0 \times 10^8$	$1,5 \times 10^7$	$3,8 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
		24 часа	$4,5 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	$6,0 \times 10^9$	$6,2 \times 10^9$
Y-330	<i>S. faecalis</i>	0-10 мин	$2,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$	$4,0 \times 10^6$	$3,6 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$
		4-4.30 часа	$4,9 \times 10^5$	$1,5 \times 10^7$	$1,5 \times 10^8$	$1,2 \times 10^7$	$2,5 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$
		24 часа	$3,7 \times 10^8$	$3,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$
Y-583	<i>C. albicans</i>	0-10 мин	$3,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	$7,0 \times 10^3$	$2,2 \times 10^4$	$7,5 \times 10^4$
		4-4.30 часа	$6,7 \times 10^6$	$7,5 \times 10^5$	$1,7 \times 10^7$	$2,9 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$
		24 часа	$2,6 \times 10^7$	$8,5 \times 10^6$	$3,1 \times 10^7$	$2,7 \times 10^7$	$3,3 \times 10^7$	$3,7 \times 10^7$
В-836	<i>M. smegmatis</i>	0-10 мин	$1,4 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$	$7,5 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$
		4-4.30 часа	$1,2 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$	$4,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
		24 часа	-	-	-	-	-	-

Колл.№ штамма	Наименование штамма	Время культивирования	Экстракт / титр клеток тест-штамма (КОЕ/мл)					
			<i>Sg</i>	<i>Sc</i>	<i>Ss</i>	<i>Sl</i>	<i>Sj</i>	Контроль культуры
В-1373	<i>E. coli</i>	0-10 мин	$6,0 \times 10^6$	$5,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$
		4-4.30 час	$1,4 \times 10^9$	$1,45 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$	$1,15 \times 10^9$	$2,1 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$
		24 час	$6,5 \times 10^8$	$9,5 \times 10^8$	$1,4 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$	$1,9 \times 10^9$
В-581	<i>S. typhimurium</i>	0-10 мин	$1,05 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$	$1,45 \times 10^7$	$4,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$
		4-4.30 час	$1,1 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,55 \times 10^9$	$7,5 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$
		24 час	$1,2 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,1 \times 10^9$	$8,5 \times 10^8$	$1,15 \times 10^9$	$1,15 \times 10^9$
В-1266	<i>S. aureus</i>	0-10 мин	$1,05 \times 10^7$	$1,85 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$	$1,35 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
		4-4.30 час	$3,7 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$	$5,5 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^9$
		24 часа	$2,4 \times 10^9$	$7,5 \times 10^8$	$8,0 \times 10^8$	$2,1 \times 10^9$	$5,0 \times 10^8$	$2,8 \times 10^9$
В-1351	<i>S. epidermidis</i>	0-10 мин	$2,9 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$
		4-4.30 час	$3,0 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$3,2 \times 10^7$	$3,0 \times 10^7$	$3,7 \times 10^7$
		24 час	$7,5 \times 10^7$	$8,0 \times 10^7$	$1,2 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	$2,0 \times 10^9$
В-1376	<i>B. subtilis</i>	0-10 мин	$1,5 \times 10^4$	$8,5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$
		4-4.30 час	0	0	0	$1 \times 10^2$	0	$1,9 \times 10^6$
		24 час	0	0	0	10	0	$2,0 \times 10^7$
В-1267	<i>P. mirabilis</i>	0-10 мин	$1,8 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$2,1 \times 10^7$
		4-4.30 час	$2,0 \times 10^9$	$1,9 \times 10^9$	$1,7 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$	$3,3 \times 10^9$
		24 час	$4,5 \times 10^9$	нд	$4,9 \times 10^9$	$3,0 \times 10^9$	$3,0 \times 10^9$	$4,4 \times 10^9$
В-1	<i>S. marcescens</i>	0-10 мин	$5,0 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	$2,7 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$
		4-4.30 час	$5,5 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$1,4 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
		24 час	$1,1 \times 10^9$	$9,0 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$
Y-583	<i>C. albicans</i>	0-10 мин	$3,7 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^4$	$4,1 \times 10^4$
		4-4.30 час	$3,0 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$	$3,3 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$4,5 \times 10^6$
		24 час	$1,3 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$3,7 \times 10^7$	$3,8 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$
В-836	<i>M. smegmatis</i>	0-10 мин	$1,4 \times 10^5$	$6,5 \times 10^4$	$7,5 \times 10^4$	$8,5 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$	$2,4 \times 10^5$
		4-4.30 часа	$1,2 \times 10^5$	$7,0 \times 10^4$	$9,5 \times 10^4$	$4,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$
		24 часа	-	-	-	-	-	-
В-1367	<i>B. cereus</i>	0-10 мин	$5,0 \times 10^4$	$4,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$	$6,0 \times 10^4$	$7,5 \times 10^4$	$1,0 \times 10^5$
		4-4.30 час	0	0	50	50	0	$9,0 \times 10^7$
		24 час	0	0	0	0	0	$2,3 \times 10^8$
В-330	<i>S. faecalis</i>	0-10 мин	$2,3 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$
		4-4.30 часа	$2,0 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	$2,2 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$5,4 \times 10^8$
		24 часа	$1,3 \times 10^8$	$9,0 \times 10^7$	$2,3 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$7,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^9$

Примечание: \* - мелкие, нетипичные

Полученные данные по эффективному ингибированию роста тест-штамма *B. cereus* В-1367 экстрактами исследуемых растений имеет важное значение, так как представители этого вида, встречающиеся повсеместно в воздухе, почве, помещениях, наиболее известные как возбудители пищевых инфекций, могут вызывать заболевание, похожее на газовую гангрену, пневмонию, менингиты, септицемию, бактериемию, эндофтальмит, эндокардит, сальпингит, кожные инфекции, инфицирование мочевыделительного тракта, встречаться в виде нозокомиальных инфекций [29, 30]. Возможность сдерживания роста такого возбудителя как *B. cereus* имеет большое практическое значение.

Биологическая активность экстрактов растений обусловлена присутствием вторичных метаболитов. Изучаемые виды растений семейства *Caryophyllaceae* характеризуются способностью синтезировать множество соединений групп флавоноидов и экдистероидов [23-26, 31-34].

Таблица 4. Содержание вторичных метаболитов в среде

Образец	Содержание шафтозида в среде, мг/мл		Содержание 20-гидроксиэкдизона в среде, мг/мл	
	1:2*	1:1*	1:2	1:1
<i>S. chalconica</i>	0,47	0,71	0,11	0,16
<i>S. viridiflora</i> семена (Sv 1)	0,13	0,20	0,53	0,81
<i>S. viridiflora</i> надз. часть (Sv 2)	0,26	0,40	0,14	0,21
<i>S. graefferi</i>	0,67	1,02	0,28	0,43
<i>S. colpophylla</i>	1,33	2,02	0,13	0,20
<i>S. sendtneri</i>	1,07	1,62	0,25	0,38
<i>S. linicola</i>	0,41	0,61	0,25	0,38
<i>S. jennisensis</i>	0,017	0,025	0,07	0,11

Примечание: 1:2\* и 1:1\* - соотношение образец:среда.

В настоящее время в литературе редко встречаются данные, указывающие на связь структура соединений–антимикробная активность видов семейства *Caryophyllaceae*. В данной работе показано, что наряду с бутанольными комплексами растений антимикробную активность в отношении разных штаммов проявляли и индивидуальные соединения – 20-гидроксиэкдизон и шафтозид, обнаруженные во всех видах растений.

В связи с тем фактом, что экстракты растений и шафтозид активны в отношении одинаковых штаммов, а также присутствием во всех комплексах растений этого флавоноида, сделано предположение, что антимикробная активность экстрактов изученных видов обусловлена присутствием шафтозида. Из результатов экспериментов следует, что активность проявляется при минимальной концентрации флавоноида (0,025 мг/мл) в *S. jennisensis*.

Сравнение бутанольных экстрактов семян и надземной части *S. viridiflora* (Sv 1 и Sv 2) показало, что при соотношении экстракт:среда 1:1 бутанольный экстракт Sv 2, содержащий флавоноидов в 4,6 больше, чем экдистероидов, проявил более сильное влияние на жизнеспособность грамположительных клеток тест-штаммов: через 4 часа в варианте экстракта семян Sv 1 титр жизнеспособных клеток составлял для штамма *B. cereus* В-1367  $1,0 \times 10^3$ , в контроле –  $1,1 \times 10^8$  КОЕ/мл КЖ, для штамма *B. subtilis*  $9,5 \times 10^6$ , в контроле –  $1,3 \times 10^7$  КОЕ/мл КЖ, в то время как экстракт надземной части Sv 2 этого же вида, содержащий в два раза больше

флавоноида шафтозида по сравнению с Sv 1, полностью угнетал эти штаммы. 20-Гидроксиэкдизон проявил активность лишь в начале инкубирования в отношении штамма *P. mirabilis*. Экстракт *S. graefferi* вызывал снижение титра жизнеспособных клеток штамма *B. cereus* на три порядка в сравнении контролем, бутанольный – в 10 раз, при этом одинаковый эффект оказали 20Е и шафтозид (в среде 1:2). Содержание шафтозида в экспериментах при соотношении образец:среда 1:2 и 1:1 составило 0,67 и 1,02 % соответственно.

### **Выводы**

Впервые установлена антимикробная активность бутанольных экстрактов *Silene chalconica*, *S. viridiflora*, *S. graefferi*, *S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. linicola*, *S. jensenseensis*. Показано, что индивидуальный флавоноид шафтозид, выделенный из ряда изученных видов и входящий в состав всех объектов исследования, проявляет ингибирующую активность на штаммы *Bacillus cereus* В-1367 и *Bacillus subtilis* В-1376 и слабое действие на штаммы *Staphylococcus aureus* В-1266 и *S. epidermidis* В-1251. Установлено, что индивидуальный 20-гидроксиэкдизон, содержащийся во всех изученных экстрактах растений, активен в отношении штаммов *P. mirabilis*.

Показано, что антимикробному действию исследуемых экстрактов не подвержены штаммы грамотрицательных бактерий *S. typhimurium* В-581; *K. pneumoniae* В-378, *Shigella sonnei* В-582. Антимикробное действие исследуемых экстрактов наиболее явно проявилось относительно штаммов грамположительных бактерий *S. aureus* В-1266, *S. epidermidis* В-1351, *S. faecalis* В-330, штаммов *B. cereus* В-1367 и *B. subtilis subsp. spizizenii* В-1376. Относительно спорообразующих штаммов грамположительных бактерий *B. cereus* В-1367 и *B. subtilis subsp. spizizenii* В-1376 наиболее эффективны были экстракты надземной части видов *S. viridiflora*, *S. graefferi*, *S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. linicola*, *S. jensenseensis* в повышенной концентрации (соотношение со средой инкубирования 1:1): титр клеток уже в начале культивирования был или резко снижен или равнялся нулю. К 24 часам культивирования популяция жизнеспособных клеток в КЖ штаммов не восстанавливалась;

Вероятно, высокая антимикробная активность выделенных комплексов обусловлена наличием не только шафтозида, но и других флавонов, присутствующих в них.

Таким образом, полученные результаты позволяют рекомендовать наиболее активные исследуемые бутанольные комплексы *S. viridiflora*, *S. graefferi*, *S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. linicola*, *S. jensenseensis* и флавоноид шафтозид для разработки препаратов, подавляющих размножение грамположительных патогенных бактерий.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений Новосибирск, 1990. 336 с.
- 2 Вичканова С.А., Крутикова Н.М. Отечественные растительные препараты ВИЛАР как альтернатива импортным аналогам // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения. СПб.; Пушкин, 1999. С. 187–189.
- 3 Бортникова В.В., Крепкова Л.В., Арзамасцев Е.В., Кузнецов Ю.Б., Боровкова М.В. Противовоспалительные свойства некоторых растительных антимикробных и противовирусных препаратов. // Химия, технология, медицина. М., 2000. С. 369–375.
- 4 Андреева И.С., Лобанова И.Е., Высочина Г.И., Соловьянова Н.А. Сравнительная оценка антимикробной активности некоторых перспективных лекарственных растений // Растительный мир Азиатской России. 2018. № 1(29). С. 91–99. doi: 10.21782/RMAR1995-2449-2018-1(91-99)
- 5 Kwon Y.-I, Apostolidis E, Labbe R. G, Shetty K. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by phenolic phytochemicals of selected clonal herbs species of Lamiaceae family and likely mode of action through proline oxidation. // Food Biotechnol. 2007. 21. P.71–89. doi.org/10.1080/08905430701191205
- 6 Nadova S., Miadokova E., Alfoldiova L., Kopaskova M., Hasplova K., Hudecova A., Vaculcikova D., Gregan F., Cipak L. Potential antioxidant activity, cytotoxic and apoptosis-inducing effects of *Chelidonium majus* L. extract on leukemia cells. // Neuro Endocrinol. Lett. 2008. 29. P. 649–652.
- 7 Zhang Y.-M, Rock C.O. Evaluation of epigallocatechin gallate and related plant polyphenols as inhibitors of the Fab G and Fab I reductases of bacterial type II fatty-Acid synthase. // J. Biol. Chem. 2004. 279. P. 30994–31001. <https://doi.org/10.1074/jbc.R600004200>
- 8 Roccaro A.S., Blanco A.R., Giuliano F., Rusciano D., Enea V. Epigallocatechin Gallate Inhibits Biofilm Formation by Ocular Staphylococcal Isolates // Antimicrob Agents Chemother. 2004. 48. P. 1968–1973. doi: 10.1128/AAC.48.6.1968-1973.2004
- 9 Hoffmann J., Timmermann B., McLaughlin S.P., Punnapayak H. Potential antimicrobial activity of plants from the Southwestern United States / Int. J. Pharmacog. 1993. № 31. P. 101–115.
- 10 Keskin D., Güvensen N.C., Yildiz K. Antimicrobial Activity of *Silene cariensis* subsp. *cariensis* and *Silene pungens* from Turkey // Advances in Environmental Biology. 2016. № 10 (7). P.167–172.
- 11 Akgöz Y. Biological and antioxidant activities of *Silene* sp. // International research journal of pharmacy. 2014. Vol. 5 (11). P. 810–813.
- 12 Toroglu S., Keskin D., Yildiz K. Comparison of Antimicrobial Activity of *Silene montbretiana* Boiss. five different Extracts from Turkey // Journal of Applied Science and Agriculture. 2013. 8(3). P. 86–89.
- 13 Taskin T., Bitlis L. Antioxidant activity of *Silene alba* subsp. *divaricata* and *Stellaria media* subsp. *media* from Caryophyllaceae // Spatula DD. 2013. № 3(1). P. 1–5.
- 14 Tosun F., Kızılay Ç. A., Sener B., Vural M. The Evaluation of Plants from Turkey for in Vitro Antimycobacterial Activity // Pharmaceutical Biology. 2005. 43(1). P. 58–63.
- 15 Mamadaliyeva N.Z., Yuldasheva N.K., Egamberdieva D. Fatty-acid composition and antibacterial activity of CHCl<sub>3</sub> extracts of three plants of the genus *Silene* // Chem. Nat. Comp. 2010. № 46. P. 95–96.
- 16 Toroglu S., Keskin D., Yildiz K. Comparison of antimicrobial activity of *Silene laxa* Boiss. & *Silene caramanica* Boiss.& Heldr different extracts from Turkey // Journal of Pure & Applied Microbiology. 2013. № 7(3). P. 1763–1768.
- 17 Fazly Bazzaz B.S., Haririzadeh G. Screening of Iranian plants for antimicrobial activity // Pharm. Biol. 2003. № 41. P. 573–583.
- 18 Meymand Z.M., Moshafi M.H., Forufanfar H. Antibacterial Activity of Metanolic Extract of 12 Herbal Species on 6 Bacterial Strains Using Cylinder-plate Method // Journal of Rafsanjan University of Medical sciences. 2009. 8(3). P. 227–238.
- 19 Souri E., Amin Gh.R., Dehmoubed Sharifabadi A., Nazifi A., Farsam H. Antioxidative activity of sixty plants from Iran // Iranian J. of Pharmaceutical Res. 2004. № 3. P. 55–59.
- 20 Karamian R., Ghasemlou F. Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of three *Silene* species from Iran // International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 2013. № 5(3). P. 305–312.
- 21 Ertürk Ö., Hatice K., Nurettin Y., and Zihni D. Antimicrobial properties of *Silene multifida* (Adams) Rohrb. Plant extracts. // Turk. J. Biol. 2006. № 30. P. 17–21.
- 22 Greuter W. *Silene* (Caryophyllaceae) in Greece: a subgeneric and sectional classification. // Taxon. 1995. V. 44. P. 543–581.
- 23 Филоненко Е.С., Зибарева Л.Н. Экдистероиды и флавоноиды *Silene graefferi* // Химия растительного сырья. 2021. №1. С. 175–182. doi: 10.14258/jcprm.2021018294
- 24 Зибарева Л.Н., Филоненко Е.С., Черняк Е.И., Морозов С.В., Котельников О.А. Флавоноиды некоторых видов растений рода *Silene* //Химия растительного сырья. 2022. № 3. С. 109-118. Doi:10.14258/jcprm.20220310592

- 25 Зибарева Л.Н., Балтаев У.А., Свиридова Т.П., Саатов З., Абубакиров Н.К. Виды рода *Lychnis L.* - перспективные источники экидистероидов // Растительные ресурсы. 1995. Т. 31, вып. 4. С. 1–9.
- 26 Zibareva L., Yeriomina V.I., Munkhjargal N., Girault J. P., Dinan L., Lafont R. The phytoecdysteroid profiles of 7 species of *Silene* (Caryophyllaceae). // Archives of insect biochemistry and physiology. 2009. 72(4): 234–248. doi: 10.1002/arch.20331
- 27 Биотехнология. Теория и практика. 2013. № 4. С. 59–62.
- 28 Патент 1755440. Способ получения средства, обладающего противогрибковым действием / Л.Н. Зибарева, С.Е. Дмитрук, Е.Н. Сальникова. // БИ. 1993. № 35.
- 29 Rasko D.A., Altherr M.R., Han C.S., Ravel J. Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. // FEMS Microbiol. Rev. 2005. V. 29. № 2. P. 303–329. FEMS Microbiol Rev doi: 10.1016/j.femsre.2004.12.005
- 30 Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. // Clin Microbiol Rev. 2010 Apr;23(2). P. 382–98. doi: 10.1128/CMR.00073-09
- 31 Саатов З., Абдуллаев Н.Д., Горовиц М.Б., Абубакиров Н.К. Фитоэкидистероиды растений рода *Silene* X. Силенеозид E-2-дезоксид- $\alpha$ -экидизон-3-О- $\beta$ -глюкопиранозид *Silene brahuica*. // Химия природ. соедин. 1986. С. 323–326.
- 32 Bathori M., Girault J.-P., Kalasz H., Mathe I., Dinan L.N., Lafont R. Complex phytoecdysteroid cocktail of *Silene otites* (Caryophyllaceae) // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 1999. V. 41. P. 1–8.
- 33 Селиверстова (Бадулина) А.А., Зибарева Л.Н., Еремина В.И. Закономерности распространения экидистероидов в растениях секции *Otites* Otth рода *Silene L.*: хемотаксономический подход // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2014. № 3 (27). С. 101–114.
- 34 Darmograj, V. Flavonoids of plants of the genera *Silene* and *Otites* Adans, family Caryophyllaceae. // Chem. Nat. Compd. 1977. 13. 102–103.

#### **Antimicrobial activity of butanol complexes and isolated secondary metabolites of some species of genus *Silene* of the family Caryophyllaceae**

Zibareva L.N., Filonenko E.S., Andreeva I.S., Solovyanova N.A., Nesterova S.V.

Extracts of 9 species of the Caryophyllaceae family were screened for antimicrobial activity on the example of 17 types of strains of microorganisms. The inhibitory activity of 7 butanol extracts has been shown against a number of pathogenic strains belonging to the species *Mycobacterium smegmatis*, *Phroteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*. The extracts studied were most effective on the bacteria *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. It was found that all the studied plant species of the genera *Lychnis* and *Silene* contain ecdysteroids and flavonoids. The isolated individual compounds contained in all the studied species showed antimicrobial action on strains of a number of bacteria: the ecdysteroid 20-hydroxyecdysone suppressed the growth of the strain of *R. mirabilis*, while the flavonoid shaftoside inhibited strains of bacteria *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *R. mirabilis*, *M. smegmatis*. Gram-negative bacteria *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *Pseudomonas aeruginosa* are not susceptible to the antimicrobial action of extracts under experimental conditions.

Determination of antimicrobial activity was carried out by methods – diffusion and joint incubation of plant extracts and cells of test strains of microorganisms in a liquid nutrient medium LB at the ratio sample:medium 1:2 and 1:1. Increase in the concentration of secondary metabolites of ecdysteroids and flavonoids in experiments with butanol complexes of substances with a sample ratio:the 1:1 environment led to an increase in antimicrobial activity up to the complete inhibition of Gram-positive bacteria *B. subtilis* and *B. cereus* by extracts of plant species *Silene graefferi*, *S. colpophylla*, *S. sendtneri*, *S. linicola*, *S. jensenseensis* *S. viridiflora* (seeds) and individual shaftoside.

Keywords: antimicrobial activity, Caryophyllaceae, *Silene*, flavonoids, ecdysteroids.

#### **Referens**

- 1 Georgievsky VP, Komissarenko NF, Dmitruk SE. Biologically active substances of medicinal plants. Novosibirsk: Nauka; 1990: 336. (In Russian)

2. Vichkanova SA, Krutikova NM. Domestic herbal preparations VILAR as an alternative to imported analogues. Topical problems of creating new drugs of natural origin 1999: 187-189. (In Russian).
3. Bortnikova VV, Krepkova LV, Arzamastsev EV, Kuznetsov YuB, Borovkova MV. Anti-inflammatory properties of some plant antimicrobial and antiviral drugs. Chemistry, technology, medicine 2000: 369-375. (In Russian)
4. Andreeva IS, Lobanova IE, Vysochina GI, Solovyanova NA. Comparative assessment of the antimicrobial activity of some promising medicinal plants. Plant world of Asian Russia 2018. 1(29). P. 91-99. (In Russian) doi:10.21782/RMAR1995-2449-2018-1(91-99)
5. Kwon Y.-I, Apostolidis E, Labbe R. G, Shetty K. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by phenolic phytochemicals of selected clonal herbs species of Lamiaceae family and likely mode of action through proline oxidation. // Food Biotechnol 2007. 21. P. 71–89. doi.org/10.1080/08905430701191205
6. Nadova S., Miadokova E., Alfoldiova L., Kopaskova M., Hasplova K., Hudecova A., Vaculcikova D., Gregan F., Cipak L. Potential antioxidant activity, cytotoxic and apoptosis-inducing effects of *Chelidonium majus* L. extract on leukemia cells. // Neuro Endocrinol. Lett. 2008. 29. P. 649–652.
7. Zhang Y.-M, Rock C.O. Evaluation of epigallocatechin gallate and related plant polyphenols as inhibitors of the Fab G and Fab I reductases of bacterial type II fatty-Acid synthase. // J. Biol. Chem. 2004. 279. P. 30994–31001. https://doi.org/10.1074/jbc.R600004200
8. Roccaro A.S., Blanco A.R., Giuliano F., Rusciano D., Enea V. Epigallocatechin Gallate Inhibits Biofilm Formation by Ocular Staphylococcal Isolates // Antimicrob Agents Chemother. 2004. 48. P. 1968–1973. doi: 10.1128/AAC.48.6.1968-1973.2004
9. Hoffmann J., Timmermann B., Mclaughlin S.P., Punnapayak H. Potential antimicrobial activity of plants from the Southwestern United States / Int. J. Pharmacog. 1993. № 31. P. 101–115.
10. Keskin D., Güvensen N.C., Yildiz K. Antimicrobial Activity of *Silene cariensis* subsp *cariensis* and *Silene pungens* from Turkey // Advances in Environmental Biology. 2016. № 10 (7). P.167–172.
11. Akgöz Y. Biological and antioxidant activities of *Silene* sp. // International research journal of pharmacy. 2014. Vol. 5 (11). P. 810–813.
12. Toroglu S., Keskin D., Yildiz K. Comparison of Antimicrobial Activity of *Silene montbretiana* Boiss. five different Extracts from Turkey // Journal of Applied Science and Agriculture. 2013. 8(3). P. 86–89.
13. Taskin T., Bitlis L. Antioxidant activity of *Silene alba* subsp. *divaricata* and *Stellaria media* subsp. *media* from Caryophyllaceae // Spatula DD. 2013. № 3(1). P. 1–5.
14. Tosun F., Kızılay Ç. A., Sener B., Vural M. The Evaluation of Plants from Turkey for in Vitro Antimycobacterial Activity // Pharmacobacterial Biology. 2005. 43(1). P. 58–63.
15. Mamadalieva N.Z., Yuldasheva N.K., Egamberdieva D. Fatty-acid composition and antibacterial activity of CHCl<sub>3</sub> extracts of three plants of the genus *Silene* // Chem. Nat. Comp. 2010. № 46. P. 95–96.
16. Toroglu S., Keskin D., Yildiz K. Comparison of antimicrobial activity of *Silene laxa* Boiss. & *Silene caramanica* Boiss.& Heldr different extracts from Turkey // Journal of Pure & Applied Microbiology. 2013. № 7(3). P. 1763–1768.
17. Fazly Bazzaz B.S., Haririzadeh G. Screening of Iranian plants for antimicrobial activity // Pharm. Biol. 2003. № 41. P. 573–583.
18. Meymand Z.M., Moshafi M.H., Forufanfar H. Antibacterial Activity of Metanolic Extract of 12 Herbal Species on 6 Bacterial Strains Using Cylinder-plate Method // Journal of Rafsanjan University of Medical sciences. 2009. 8(3). P. 227–238.
19. Souri E., Amin Gh.R., Dehmoubed Sharifabadi A., Nazifi A., Farsam H. Antioxidative activity of sixty plants from Iran // Iranian J. of Pharmaceutical Res. 2004. № 3. P. 55–59.
20. Karamian R., Ghasemlou F. Screening of total phenol and flavonoid content, antioxidant and antibacterial activities of the methanolic extracts of three *Silene* species from Iran // International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 2013. № 5(3). P. 305–312.
21. Ertürk Ö., Hatice K., Nurettin Y., and Zihni D. Antimicrobial properties of *Silene multifida* (Adams) Rohrb. Plant extracts. // Turk. J. Biol. 2006. № 30. P. 17–21.
22. Greuter W. *Silene* (Caryophyllaceae) in Greece: a subgeneric and sectional classification. // Taxon. 1995. V. 44. P. 543–581.
23. Filonenko E.S., Zibareva L.N. Ecdysteroids and flavonoids *Silene graefferi* // Chemistry of plant raw materials. 2021. No.1. P. 175-182. doi: 10.14258/jcprm.2021018294 (In Russian)
24. Zibareva L.N., Filonenko E.S., Chernyak E.I., Morozov S.V., Kotelnikov O.A. Flavonoids of some plant species of the genus *Silene* // Chemistry of plant raw materials. 2022. No. 3. pp. 109-118. Doi:10.14258/jcprm.20220310592
25. Zibareva L. N., Baltaev U. A., Sviridova T. P., Caatov Z., Abubakirov N. K. Vidy roda *Lychnis* L.-perspektivnye istochniki ehkdisteroidov [Species of the genus *Lychnis* L. - promising sources of ecdysteroids]. – Rastitel'nye resursy. 1995. 4(31). P. 1–9. (In Russian).
26. Zibareva L., Yeriomina V.I., Munkhjargal N., Girault J. P., Dinan L., Lafont R. The phytoecdysteroid profiles of 7 species of *Silene* (Caryophyllaceae). // Archives of insect biochemistry and physiology. 2009. 72(4): 234–248. doi: 10.1002/arch.20331
27. Biotechnology. Theory and practice. 2013. № 4. P. 59–62

28. Patent 1755440 A method for obtaining a drug that has an antifungal effect. / L.N. Zibareva, S.E. Dmitruk, E.N.Salnikova //BI. 1993 № 35. (In Russian)
29. Rasko D.A., Altherr M.R., Han C.S., Ravel J. Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. // FEMS Microbiol. Rev. 2005. V. 29. № 2. P. 303–329. FEMS Microbiol Rev doi: 10.1016/j.femsre.2004.12.005
30. Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. // Clin Microbiol Rev. 2010 Apr; 23(2):382-98. doi: 10.1128/CMR.00073-09
31. Saatov Z, Abdullaev ND, Horowitz MB, Abubakirov NK. Phytoecdysteroids of plants of the genus *Silene* X. Sileneoside E-2-deoxy- $\alpha$ -ecdysone-3-O- $\beta$ -glucopyranoside from *Silene brahuica*. Chem. Nat. Comp. 1986; 22: P. 323–326. (In Russian)
32. Bathori M., Girault J.-P., Kalasz H., Mathe I., Dinan L.N., Lafont R. Complex phytoecdysteroid cocktail of *Silene otites* (Caryophyllaceae) // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 1999. V. 41. P. 1–8.
33. Seliverstova (Badulina) A.A., Zibareva L.N., Eremina V.I. // Patterns of ecdysteroid distribution in plants of the Otites Otth section of the genus *Silene* L.: chemotaxonomic approach Bulletin of Tomsk State University. Biology. 2014. No. 3 (27). P. 101-114. (In Russian)
34. Darmograi, V. Flavonoids of plants of the genera *Silene* and *Otites* Adans, family Caryophyllaceae. Chem. Nat. Compd. 1977. 13. P. 102–103.