

ПЕРСПЕКТИВЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ НЕКОТОРЫХ ДИКОРАСТУЩИХ РАСТЕНИЙ АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ

В результате изучения распространения исследуемых лекарственных растений на территории Астраханской области установлены достаточно высокие запасы *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Achillea micrantha* Wild, а также запасы и распространенность *Glycyrrhiza glabra* L. Исследованы места обитания и эколого-биологические особенности этих растений, проведено исследование состава и биологической (антибактериальной) активности. В результате обнаружено выраженное антибактериальное действие *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Achillea micrantha* Wild и высокая противотуберкулезная активность препаратов *Glycyrrhiza glabra* L.

Ключевые слова: *Glycyrrhiza glabra* L., солодка голая, *Achillea micrantha* Wild, тысячелистник мелкоцветковый, *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, цмин песчаный, распространение, запасы, химический состав, экстрагирование, противомикробная активность.

Введение

Астраханская область обладает уникальным природно-ландшафтным положением и климатическими особенностями, связанными с повышенным уровнем инсоляции, крайне низкой влажностью воздуха, засушливыми глинисто-песчаными почвенными ландшафтами Приволжских песков среди многочисленной сети рукавов, протоков, ильменей Волго-Ахтубинской поймы и дельты Волги в целом. В силу сложившихся природно-экологических условий здесь успешно уживаются как пустынно-песчаные, так и тропические представители флоры. Таким образом, на территории Астраханской области создана уникальная природно-ландшафтная обстановка для развития фитоценозов различной структуры с разнообразием видов и представителей флористического состава [2, 13, 14].

Среди дикорастущей флоры Астраханской области встречаются лекарственные виды растений, содержащие разнообразного химического состава, в том числе биологически активные, вещества, обладающие противомикробной активностью и фитонцидными свойствами [3, 4].

Известно, что на химизм лекарственных растений влияет комплекс экологических условий, который связан с географическими особенностями, такими как широта и долгота, высота над уровнем моря, близость водных бассейнов, количество осадков, солнечных и тепловых факторов во время вегетации. С изменением географической обстановки изменяется весь комплекс взаимно связанных факторов (смена тепла и холода, интенсивность солнечного света,

доступность ультрафиолетовых лучей и т.д.). В связи с этим, по мнению многих авторов, в растениях южных широт накапливается обычно больше действующих веществ [7, 8]. Известны химические вещества лекарственных растений, обладающие противомикробной активностью (флавоноиды, эфирные масла, спирты, смолы, дубильные вещества, аллицин, рафанин, хамазулен и многие другие). В связи с этим в последнее время актуальным оказалось исследование свойств многих лекарственных растений дикорастущей флоры с противомикробными, иммуномодулирующими и иммуногенными свойствами, имеющих в составе не только известные науке активные вещества, а также белковые соединения (лектины), которые являются аналогами антител животных и человека. С учетом этого возникла необходимость изучения распространения и запасов в Астраханской области дикорастущих растений с уникальными свойствами. Целью данной работы являлось исследование запасов и распространения ценного лекарственного растительного сырья в природе Астраханской области, исследование химических веществ и их компонентов, содержащихся в экстрактах изучаемых растений, изучение их химической и биологической антимикробной (противотуберкулезной) активности.

Материалы и методы

Среди изучаемых видов были *Glycyrrhiza glabra* L., сем. Fabaceae, распространенная в пойме р. Волга; *Helichrysum arenarium* (L.) Moench и *Achillea micrantha* Wild, сем. Asteraceae [1, 6, 9, 14].

Тысячелистник мелкоцветковый и цмин песчаный произрастают в Астраханской области на крупном массиве бугристо-грядовых песков площадью 6000 кв. км (Приволжские Астраханские пески). С севера на юг массив песков пересекает автомагистраль Астрахань – Волгоград. На 25-м, 28-м, 31-м километрах этой трассы по обе стороны от дороги (на запад и восток) были проложены шесть маршрутов длиной в 1000 м каждый. Для определения запасов сырья на этих маршрутах через каждые 30 м закладывались учетные площадки (1 кв. м). При наличии на них изучаемых видов срезались верхушки побегов с соцветиями (10–15 см длиной). Солодка голая произрастает в пойменной части Астраханской области вдоль берегов рек, ериков, протоков и др. водоемов. Запасы подземных и надземных органов солодки определялись по учетным площадкам площадью 1 кв. м каждая. Обследования проводились в Икрянинском, Володарском и Приволжском районах области. Проводился сбор растений для дальнейших исследований их свойств [5, 14]. Кроме того, были изучены некоторые биологически активные компоненты исследуемых растений в жидких экстрактах из собранных и высушенных частей дикорастущих растений: водно-спиртовых (1), буферных (2) экстрактах корней *Glycyrrhiza glabra*; водно-спиртовых экстрактах соцветий *Achillea micrantha* (3), *Helichrysum arenarium* (4). Были исследованы химические компоненты экстрактов методами тонкослойной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии. Из экстрагированных веществ готовили препараты с антимикробной активностью. Противомикробные исследования препаратов после отработки активной дозы проводили методом прямой диффузии в питательную среду, засеянную бактериальной суспензией, путем внесения в лунку препаратов растений *Glycyrrhiza glabra*, *Helichrysum arenarium*, *Achillea micrantha*. После экспозиции в термостате проводили измерение диаметров зон задержки роста (ДЗЗР) засеянных бактерий вокруг лунок с экстрактами. Изучение противотуберкулезной активности проводили в жидкой среде Школьниковой, засеянной *Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv* с пересевом на среду Левенштейна – Йенсена. Противомикробная активность растительных экстрактов в отношении культивируемого штамма *M. tuberculosis H₃₇Rv*

была изучена в специализированном учреждении с соблюдением всех мер осторожности по отношению к экспериментальным животным (согласно Женевской конвенции) и окружающей среде. Все исследования подвергались статистической обработке.

Результаты и обсуждение

В результате проведенных экспедиционных выездов были исследованы запасы растительного сырья некоторых районов Астраханской области. Данные результатов маршрутных исследований по определению запасов сырья тысячелистника мелкоцветкового *Achillea micrantha* и цмина песчаного *Helichrysum arenarium* приведены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, более продуктивным по запасам исследуемого лекарственного сырья является *Achillea micrantha* ($5,73 \pm 0,4 \text{ г/м}^2$), превышающий запасы *Helichrysum arenarium* ($3,11 \pm 0,06 \text{ г/м}^2$) в 1,8 раза.

Результаты изучения продуктивности сырья солодки голой представлены в таблице 2.

Как видно из данных таблицы 2, заросли *Glycyrrhiza glabra* Приволжского района по первым двум основным показателям – корни и корневища ($1125,0 \pm 25,8 \text{ г/м}^2$) – значительно превышают таковые Икрянинского района ($660,0 \pm 58,0 \text{ г/м}^2$).

Результаты исследования химических компонентов методами тонкослойной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии и ТСХА в водно-спиртовом экстракте из корня *Glycyrrhiza glabra* показали наличие следующих соединений: пик 1, 2, 3 соответствует N,N'-дibenзоилоксигептадиамиду ($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$), в пике 4 обнаружен атмосферный азот, пик 5 соответствует этил- α -D-глюкопиранозиду ($\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_6$), пик 6 соответствует кофеину ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$). Таким образом, в водно-спиртовых экстрактах корня *Glycyrrhiza glabra*, соцветий *Achillea micrantha*, *Helichrysum arenarium* идентифицирован 4',7-диоксифлавонон, в препарате буферной экстракции из корня *Glycyrrhiza glabra* идентифицирован нарингенин, в образцах соцветий *Achillea micrantha* идентифицирован паренгенин.

Кроме того, на основании хромато-масс-спектрометрического анализа в водно-спиртовых экстрактах корня *Glycyrrhiza glabra* выявлены N,N'-дibenзоилоксигептадиамид, этил- α -

Таблица 1. Запасы сырья *Helichrysum arenarium* и *Achillea micrantha*

| Наименование вида | Стороны | Средняя воздушно-сухая масса | | | | | | Средний сухой вес | | Средний запас сырья | |
|------------------------------|-----------|------------------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|-------------------|-------|---------------------|-------|
| | | 25 км | | 28 км | | 31 км | | г/м ² | кг/га | г/м ² | кг/га |
| | | г/м ² | кг/га | г/м ² | кг/га | г/м ² | кг/га | | | | |
| <i>Achillea micrantha</i> | восточная | 2,4±0,04 | 24,0 | 6,55±0,21 | 65,5 | 2,3±0,03 | 23,0 | 3,75±0,1 | 37,5 | 5,73±0,04 | 57,3 |
| | западная | 8,15±0,06 | 81,2 | 13,32±0,09 | 133,2 | 1,7±0,12 | 17,0 | 7,7±1,0 | 77,1 | | |
| <i>Helichrysum arenarium</i> | восточная | 2,95±0,1 | 29,2 | 1,7±0,05 | 17,0 | 2,35±0,1 | 23,5 | 2,35±0,2 | 23,5 | 3,11±0,06 | 31,1 |
| | западная | 7,35±0,1 | 73,5 | 2,2±0,2 | 22,0 | 2,2±0,18 | 22,0 | 3,9±0,25 | 39,0 | | |

Примечание: под выражением «сторона» подразумеваются стороны горизонта относительно места начала полевых исследований.

Таблица 2. Запасы сырья *Glycyrrhiza glabra* в исследуемых районах

| Сырье | Средняя воздушно-сухая масса | | | | Средняя продуктивность | |
|-------------------|------------------------------|-------|------------------------|-------|------------------------|-------|
| | Приволжский район, X±m | | Икрянинский район, X±m | | г/м ² | кг/га |
| | г/м ² | кг/га | г/м ² | кг/га | | |
| Корни и корневища | 1125,0±25,8 | 11250 | 660,0±58,0 | 6600 | 895,2±90,0 | 8952 |
| Побеги | 400,0±14,2 | 4000 | 233,0±8,5 | 2330 | 320±25,5 | 3200 |
| Соцветия | 52,0±4,45 | 520 | 98,0±16,7 | 980 | 78,8±10,8 | 788 |
| Плоды | 461,0±8,8 | 4610 | 60,0±5,5 | 600 | 290,5±15,2 | 2905 |

D-глюкопиранозид, кофеин, в буферных экстрактах – кофеин.

В результате бактериологических исследований была обнаружена ингибирующая активность препаратов этих растений, представленная на рисунках 1, 2.

На диаграмме отражена активность экс-трактов из растений в отношении условно-патогенных форм бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Наибольшую чувствительность *Staphylococcus aureus* проявил к растительному экстракту из *Helichrysum arenarium* (ДЗЗР=39,0±0,4), затем *Glycyrrhiza glabra* (28,5±0,2), *Achillea micrantha* (20,8±0,5). Исследуемый штамм *Escherichia coli* показал высокую чувствительность к *Helichrysum arenarium* (ДЗЗР=39,0±0,8) и *Achillea micrantha* (ДЗЗР=21,0±0,5). Таким образом, обнаружена достаточно высокая активность экстрактов соцветий *Helichrysum arenarium* по отношению как к *Staphylococcus*

aureus, так и *Escherichia coli*. Экстракты *Glycyrrhiza glabra* и *Achillea micrantha* активны оказались по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Achillea micrantha* ингибирует *Escherichia coli*

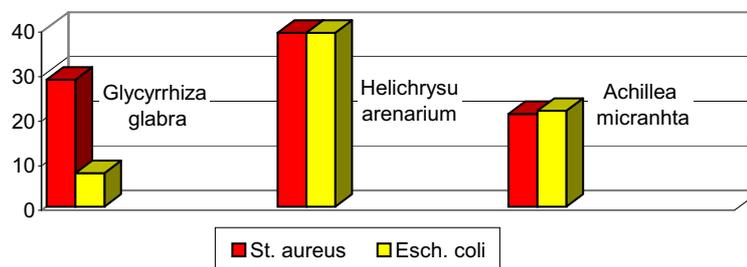


Рисунок 1. Сравнительная противомикробная активность растительных экстрактов

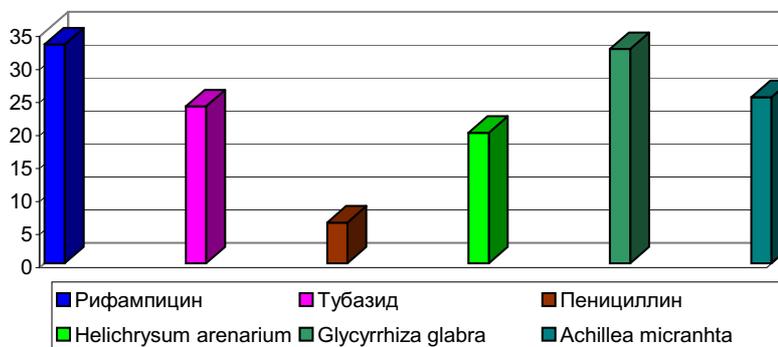


Рисунок 2. Сравнительная противотуберкулезная активность растительных экстрактов

более выражено, чем *Staphylococcus aureus*. Экстракты *Glycyrrhiza glabra* почти не подавляют развитие кишечной палочки при высокой ингибирующей активности в отношении *Staphylococcus aureus*, что отражалось во многих других исследованиях.

Результаты сравнительной противотуберкулезной активности экстрагируемых веществ изучаемых растений и коммерческих антибиотических препаратов представлены на рисунке 2.

На данной диаграмме отражена сравнительная противотуберкулезная активность экстрактов из растений *Glycyrrhiza glabra*, *Achillea micrantha*, *Helichrysum arenarium* и известных антибиотиков, где показательным является более высокая противотуберкулезная активность экстрактов корня *Glycyrrhiza glabra*, сравнимая с антибиотиком рифампицином и превышающая действие тубазида и пенициллина.

В результате изучения противотуберкулезной активности в культуре микобактерий обнаружено полное отсутствие колоний *M. tuberculosis H₃₇Rv* на среде Левенштейна – Йенсена под действием препарата из корня *Glycyrrhiza glabra* в дозе 0,025 мкг/мл (пробирка 5 – 1: 0,25). В пробирках с дозой активного вещества *Glycyrrhiza glabra* 0,015 мкг/мл обнаружены изолированные колонии бежевого цвета (пробирка 8), в контрольной пробирке с суспензией *M. tuberculosis H₃₇Rv* в среде Левенштейна – Йенсена без экстракта наблюдается рост культуры многочисленными бежевыми колониями (пробирка 7). В контрольной пробирке с цельным экстрактом *Glycyrrhiza glabra* не обнаружено даже следов роста культуры (пробирка 9). Оказалось, что препараты *Glycyrrhiza glabra* в неоднократных исследованиях обладают высокой противотуберкулезной активностью, то есть происходит тотальное подавление *M. tuberculosis H₃₇Rv* в дозе 0,025 мкг/мл [10].

Таким образом, экстрагируемые оригинальным способом вещества растений обладают довольно выраженным антибактериальным действием против банальных условно-патогенных форм бактерий, а также более выраженной активностью против микобактерий туберкулеза в сравнении с некоторыми терапевтическими антибиотиками.

Выводы

В результате проведенных исследований:

1. Впервые в Астраханской области установлены запасы сырья *Helichrysum arenarium*, *Achillea micrantha*, которые в среднем составили у первого вида 57 кг/га, а у второго – 31 кг/га в воздушно-сухом состоянии. Запасы сырья *Glycyrrhiza glabra* колебались у корней и корневищ от 6,6 т/га до 11 т/га. Продуктивность надземных органов была у стеблей – 3,2 т/г; соцветий – 0,79 т/га; плодов – 2,9 т/га.

2. Методами химического анализа в водно-спиртовых экстрактах корня *Glycyrrhiza glabra* обнаружен диоксифлавонон N,N'-дibenзоилоксигептадиамид, этил- α -D-глюкопиранозид; в буферных экстрактах *Glycyrrhiza glabra* идентифицированы нарингенин, кофеин. В экстрактах соцветий *Achillea micrantha*, *Helichrysum arenarium* идентифицированы 4',7-диоксифлавонон, паренгенин.

3. Обнаружена высокая активность по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* экстрактов соцветий *Helichrysum arenarium*, экстракты исследуемых растений *Glycyrrhiza glabra* и *Achillea micrantha* более активны оказались по отношению к *Staphylococcus aureus*. *Glycyrrhiza glabra* почти не подавляет развитие кишечной палочки.

4. Сравнительная противотуберкулезная активность экстрактов растений *Glycyrrhiza glabra*, *Achillea micrantha*, *Helichrysum arenarium* и известных антибиотиков оказалась высокой, в особенности корня *Glycyrrhiza glabra*.

5. В неоднократных исследованиях препараты *Glycyrrhiza glabra* обладали высокой противотуберкулезной активностью в дозе 0,025 мкг/мл, что является перспективным для создания противотуберкулезных фитопрепаратов с высокой активностью для дополнительной профилактической и комплексной терапии. Был получен и поддерживается патент за №2362577 [10].

6. Накопление высоких концентраций противомикробных веществ у дикорастущих лекарственных растений позволяет предлагать их для применения в практике клинических исследований в связи с минимальным побочным влиянием на организм человека, они могут быть использованы для комплексного лечения, что согласуется с мнением многих авторов [8, 11].

10.02.2011

Список литературы:

1. Абрамова Л.М., Баширова Р.М., Муртазина Ф.К., Усманов И.Ю. Характеристика ценопопуляций *Glycyrrhiza korshinskyi* Grig. на юго-востоке республики Башкортостан // Растительные ресурсы. 2001. Т. 37. Вып. 2. С. 24–29.
2. Бармин А.Н. О мониторинге растительности в дельте р. Волги // Эколого-биологические проблемы Волжского региона и Северного Прикаспия. 1996. Ч. 2. С. 17-18.
3. Блинова К.Ф., Яковлев Г.П. Ботанико-фармакогностический словарь / Ред. Блиновой К.Ф., Яковлева Г.П. М., 1990. С. 124-270.
4. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. Новосибирск: Наука, 1990. С. 52 – 333.
5. Ефремов А.П., Лукьянов О.Л., Зайко Л.Н., Семенюк Н.В. Запасы сырья дикорастущих лекарственных растений в междуречье Лабы и Урупа (Краснодарский край) // Растительные ресурсы. 1994. Т. 30. Вып. 1-2. С. 65-72.
6. Крогулевич Р.Е. Продуктивность и содержание белка в листьях *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. в вегетационном опыте // Растительные ресурсы. 2002. Вып. 2. С. 117-119.
7. Лавренов В.К., Лавренева Г.В. Современная энциклопедия лекарственных растений. СПб., 2006. 271с.
8. Муравьева Д.А. // Фармакогнозия. М., 1978. С. 15-627.
9. Новиков В.С. Популярный атлас-определитель. Дикорастущие растения. М., 2004. 416 с.
10. Пилипенко В.Н., Бармин А.Н. К состоянию популяции *Sphaeranthus volgensis* Tzvel. в дельте р. Волги // Эколого-биологические проблемы Волжского региона и Северного Прикаспия. 1998. С. 95-96.
11. Русакова Е.Г. Анализ экологической структуры флоры дельты Волги // Эколого-биологические проблемы Волжского региона и Северного Прикаспия. 1998. С. 99-100.
12. Станков С.С., Талиев В.И. Определитель высших растений Европейской части СССР. Ленинград, 1948. 1150 с.
13. Сухенко Л.Т., Урляпова Н.Г., Назарова Г.Н. Экстракт солодки голой, обладающий противотуберкулезной активностью. Патент РФ № 2362577. / БИ. 2009. №12.
14. Юдина В.Ф., Дьячкова Т.Ю., Бразовская Т.И., Максимова Т.А. Восстановление ценопопуляций *Comarum palustre* L. после заготовки надземной части // Растительные ресурсы. 1998. Вып. 3. С. 51-55.

Сведения об авторе: **Сухенко Людмила Тимофеевна**, доцент кафедры биотехнологии и биоэкологии биологического факультета Естественного института, кандидат биологических наук, докторант Астраханского государственного университета
414056, Астрахань, ул. Татищева, 20-а, тел. (8512)474264, e-mail: sukhenko@list.ru

UDC 573.6

Sukhenko L.T.

PROSPECTS FOR THE ALLOCATION ANTIMICROBIALS BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FROM SOME WILD PLANTS OF ASTRAKHAN REGION

As a result of studying of distribution of investigational medicinal plants in the Astrakhan region it was established high enough reserves of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Achillea micrantha* Wild, as well as stocks and the prevalence of *Glycyrrhiza glabra* L. The author investigated habitats, and ecological and biological characteristics of these plants, studied of composition and biological (antimicrobial) activity. As a result, strong antibacterial effect of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, *Achillea micrantha* Wild and high anti-TB activity of the preparations *Glycyrrhiza glabra* L were found.

Key words: *Glycyrrhiza glabra* L., liquorice, *Achillea micrantha* Wild, yarrow small-scale flowering, *Helichrysum arenarium* (L.) Moench, H. *arenarium*, distribution, inventory, chemical composition, extraction, antimicrobial activity.