



ӘЛ-ФАРАБИ атындағы
ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ

КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ имени АЛЬ-ФАРАБИ

AL-FARABI KAZAKH
NATIONAL UNIVERSITY

ХАБАРШЫ

БИОЛОГИЯ СЕРИЯСЫ

ВЕСТНИК

СЕРИЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ

BULLETIN

BIOLOGY SERIES

3(65) 2015

Кустова Т.С., Платаева А.К.,
Заворотная М.В.,
Карпенюк Т.А., Гончарова А.В.

**Противомикробные
свойства экстрактов *Vexibia
alopescuroides***

Методом серийных разведений в бульоне с использованием штаммов патогенных и условно патогенных микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, Methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 исследована антимикробная активность суммарных дихлорметанового и спиртового экстрактов, выделенных из корней *Vexibia alopescuroides*. Образцы собраны в фазу цветения в Алматинской области. Выявлена высокая антибактериальная активность дихлорметанового экстракта (концентрация полумаксимального ингибирования 3 мкг/мл) по отношению к *Staphylococcus aureus* и Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* и антагонистическое действие биологически активных веществ в его составе по отношению к дрожжеподобным грибам *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030.

Ключевые слова: суммарные экстракты, фракция, антимикробная активность.

Kustova T.S., Platayeva A.K.,
Zavorotnaya M.V.,
Karpenyuk T.A., Goncharova A.V.

**Antimicrobial properties
of extracts *Vexibia alopescuroides***

Microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, Methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 was used to determine the antimicrobial activity of dichloromethane extracts and alcohol by serial dilution. The extracts were isolated from roots of *Vexibia alopescuroides*. Samples were collected in the flowering phase in the Almaty region. High antibacterial activity of the extract dichloromethane (concentration of half-maximal inhibition of 3 mg / ml) against *Staphylococcus aureus* and methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* and the antagonistic effect of biologically active substances in its composition in relation to the yeast *Candida Albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030.

Key words: total extracts, fraction, antimicrobial activity.

Кустова Т.С., Платаева А.К.,
Заворотная М.В.,
Карпенюк Т.А., Гончарова А.В.

***Vexibia alopescuroides*
экстрактың антимикробтық
қасиеттері**

Staphylococcus aureus ATCC 29213, Methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 патогендік және шартты патогендік микроорганизм штамдарымен сериялық сорпада еріту әдісімен *Vexibia alopescuroides* тамырларынан бөлініп алынған дихлорметанды және спирттік экстрактылар жиынтығының антимикробтық қасиеттері зерттелген. Үлгілер гүлдеу кезінде Алматы облысында жиналған. *Staphylococcus aureus* және Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* қарсы дихлорметанды экстрактың жоғары антимикробтық белсенділігі (жартымаксимальды тежеуші концентрациясы 3 мкг/мл) және оның құрамындағы биологиялық белсенді заттардың ашытқыға ұқсас *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030 сияқты рауқұлақтарына қарсы антагонистік әсері айқындалды.

Түйін сөздер: экстракттар жиынтығы, фракция, антимикробтық белсенділік.

**ПРОТИВОМИКРОБНЫЕ
СВОЙСТВА
ЭКСТРАКТОВ *VEXIBIA*
*ALOPECUROIDES*****Введение**

В последнее время растет интерес к исследованию дикорастущих лекарственных растений, в том числе рода *Sophora* (*Vexibia*). По всему миру насчитывается более 52 видов этого рода, большинство из них распространены в Азии. Около 15 видов данного рода широко используется в традиционной Китайской медицине, что в последние десятилетия привело к быстрому росту информации по активным веществам и различным фармакологическим, лечебным свойствам. Некоторые фитохимические исследования *in vitro* и *in vivo*, а также эксперименты в клинической практике показали, что софора обладает различными фармакологическими свойствами, в том числе антиоксидантным, противоопухолевым, антинеопластическим, противомикробным, противовирусным, жаропонижающим, кардиотоническим, противовоспалительным, мочегонным а также широко используется в лечении кожных заболеваний, таких как экзема, кольпиты и псориаз [1-4].

Главными активными химическими компонентами софоры были признаны алкалоиды, а также флавоноиды, изофлавоноиды, флавоны, флавонолы и их гликозиды, сапонины, тритерпеновые гликозиды, фосфолипиды, полисахариды, и жирные кислоты [5-7].

Знание биологически активных соединений *Vexibia alopecuroides* и их активности, подбор комплекса БАВ из этого и других растений Казахстана, обладающих синергическим действием, может быть особенно необходимо при проектировании новых безопасных и эффективных составовнутрицевтических и фитотерапевтических препаратов, обеспечивающих повышенный противомикробный, ранозаживляющий, противовоспалительный эффекты.

Материалы и методы

Объектом исследования являлось дикорастущее растение флоры Казахстана *Vexibia alopecuroides* (Fabaceae). Образцы были собраны в фазу цветения в Алматинской области (5-9 км от поселка Узын-Агаш). Идентификация растения проводилась

в сравнении с коллекционным материалом Гербария Института ботаники и фитоинтродукции МОН РК и по определителям [8, 9].

Суммарный экстракт получали последовательной двухступенчатой экстракцией (дихлорметан, спирт). Корни (100 г) *Vexibia alopecuroides* экстрагировали с помощью дихлорметана при комнатной температуре 24 часа, количество полученного экстракта составило 2,2 г. Высушенный жмых подвергали повторной экстракции 95% этанолом. Количество полученного экстракта составило 8,7 г после выпаривания растворителя на роторном испарителе фирмы Cole-Parmer.

Для поиска соединений с антимикробной активностью часть суммарного экстракта (1,2 г) было разделено с помощью колоночной хроматографии на приборе Biotage Isolera, используя 100 г SNAP картридж (40-63 мкм, 60 Å, 39 x 157 мм) при потоке элюентов 40 мл/мин используя гексан и изопропанол, при ступенчатом градиенте (первая ступень в соотношении 0:100 (v/v), 2400 мл, вторая ступень промывка метанолом 385 мл). Порции фракции в объеме 25 мл собирали в пробирки 16x150 мм. Выход компонентов фракций контролировали при длине волны 254 нм и 220 нм. Было собрано 113 фракции по 22 мл каждая. Все фракции были дополнительно проанализированы при помощи тонкослойной хроматографии с использованием смеси гексан/изопропанол в качестве растворителя (75:25) на Analtech Silica Gel GF 250 мкм пластине. Хроматографически одинаковые фракции объединяли, концентрировали досуха и подвергали повторному хроматографированию.

В итоге было собрано 10 фракций (А – J), которые использовали для исследования их антимикробного потенциала.

Антимикробную активность суммарных экстрактов и их фракций определяли методом серийных разведений в бульоне [10,11] с использованием следующих штаммов патогенных и условно патогенных микроорганизмов: бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, дрожжеподобные грибы *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030. Препаратами сравнения были антибиотики «Ципрофлоксацин» и «Амфотерицин В».

Результаты и их обсуждение

Первичный скрининг на антимикробную активность проводили для этанольного и дихлорметанового экстрактов в двух повторностях. Если исследуемый образец демонстрировал зону ингибирования роста тест-объектов, превышающую 50%, то данный экстракт повторно исследовался для установления концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}). Полученные данные (таблица 1) показали, что дихлорметановый экстракт, выделенный из корней *Vexibia alopecuroides* обладал высокой активностью только против бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC 43300, ингибирование роста составило 99-100%, по отношению к другим штаммам активность не наблюдалась.

Таблица 1 – Первичный скрининг экстрактов *Vexibia alopecuroides* на антимикробную активность

Исследуемый экстракт из корней <i>Vexibia alopecuroides</i>	Ингибирование роста,% (исследуемая концентрация образца 50 мкг / мл)					
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. krusei</i>	<i>S. aureus</i>	MRS	<i>P. aeruginosa</i>
этанол	16	0	0	0	0	0
дихлорметан	16	2	0	99	100	0

Для подтверждения полученных данных, провели повторное исследование антимикробной активности экстрактов для установления концентрации полумаксимального ингибирования (IC_{50}).

Результаты вторичного скрининга (таблица 2) показали, что суммарный дихлорметановый экстракт из корней *Vexibia alopecuroides*,

показал хорошую активность по отношению к *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (IC_{50} составила 3 мкг / мл) и *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC 43300 (IC_{50} составила 2,9 мкг / мл).

Для идентификации и поиска, биологически активных веществ суммарного экстракта *Vexibia alopecuroides*, выделенную из корней *Vexibia alopecuroides* субстанцию разделили хромато-

рафированием на колонке на фракции, которые были исследованы на антибактериальную и противогрибковую активности (таблица 2).

Среди 10 фракций, только фракции D, F и I обладали антимикробными свойствами по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Methicillin-resistant S. aureus* (<0,8 мкг/мл). Фракции E и H

также обладали антимикробной активностью, так например фракция H обладала высокой антибактериальной активностью по отношению к *Staphylococcus aureus* (< 0,8 мкг / мл) и *Methicillin-resistant S. aureus* (< 0,8 мкг / мл), а также антигрибковой активностью по отношению к трем исследуемым штаммам *Candida*.

Таблица 2 – Скрининг дихлорматанового экстракта *Vexibia alopecuroides* и его фракций на антимикробную активность

Исследуемый экстракт	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida albicans</i>
	IC ₅₀ *(мкг/мл)**					
Суммарный экстракт						
<i>Vexibia alopecuroides</i> (корни) дихлорметан	3,1±1,7	2,9±0,2	>200	>200	>200	>200
Фракции						
Фракция А	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция В	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция С	>20	>20	>20	>20	>20	>20
Фракция D	<0,8	<0,8	>20	>20	>20	>20
Фракция E	<0,8	<0,8	>20	15,1±2,1	>20	>20
Фракция F	1,3±0,4	1,7±0,7	>20	>20	>20	>20
Фракция G	4,7±0,5	5,3±1,3	>20	>20	>20	>20
Фракция H	<0,8	<0,8	>20	3,8±0,6	17,7±4,2	4,5±0,5
Фракция I	1,7±0,4	<0,8	>20	>20	>20	>20
Фракция J	11,1±0,8	6,5±0,9	>20	>20	>20	>20
Ципрофлоксацин (контроль)	0,10±0,02	0,10±0,01	0,10±0,01	-	-	-
Амфотерицин В (контроль)	-	-	-	0,14±0,03	0,55±0,05	0,28±0,07

*IC₅₀ – концентрация полумаксимального ингибирования
 ** в таблице представлено среднее значение ± стандартное отклонение (n=3)

Данные по антимикробной активности суммарного экстракта *Vexibia alopecuroides* и после фракционирования говорят об антогонистическом действии биологически активных веществ в составе полученного экстракта, в связи с тем, что наблюдается отсутствие активности суммарного экстракта по отношению к грибам рода *Candida*,

но данная активность проявляется у некоторых фракций после их разделения.

Таким образом, полученные данные по антимикробной активности представляют большой интерес для дальнейших исследований по идентификации биологически активных веществ суммарного экстракта, выделенного из корней *Vexibia alopecuroides*.

Литература

- 1 Tian A., Xu T., Liu K., Zou Q., Yan X. Anti-helicobacter pylori effect of total alkaloids of sophora alopecuroides in vivo // Chinese Medical Journal.-2014.-Vol. 127(13).-P. 2484-91.
- 2 Lu X., Lin B., Tang J.G., Cao Z., Hu Y. Study on the inhibitory effect of total alkaloids of Sophora alopecuroides on osteosarcoma cell growth // African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.-2013. -Vol.11, N 1.-P. 172-5.
- 3 Liu M., Liu X.Y., Cheng J.F. Advance in the pharmacological research on matrine // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. - 2005. -Vol.28. - P. 801-804.
- 4 Zhang Y.F., Wang S.Z., Li Y.Y., Xiao Z.Y., Hu Z.L., Zhang J.P. Sophocarpine and marine inhibit the production of TNF and IL-6 in murine macrophages and prevent cachexia-related symptoms induced by colon 26 adenocarcinoma in mice // International Immunopharmacology. - 2008. -Vol. 8. - P. 1767-1772.
- 5 Lin W., Zhang J.P., Hu Z.L., Qian D.H. Inhibitory effect of matrine on lipopolysacchride induced tumor necrosis factor and interleukin-6 production from rat Kupffer cells // Yao Xue Xue Bao. - 1997. - Vol.32. -P. 93-96.
- 6 Xing N.L., Sha N., Yan H.X., Pang X.Y., Guan S.H., Yang M., Hua H.M., Wu L.J., Guo D.A. Isoprenylated flavonoids from the roots of Sophora tonkinensis // Phytochemistry Letters. - 2008. - Vol.1. - P.163-167.
- 7 Bach M.K., Brashler J.R. Inhibition of IgE and compound 48/80-induced histamine release by lectins // Immunology. - 1975. - Vol.29. - P. 371-386.
- 8 Павлов, Н.В. Флора Казахстана. - Алма-Ата: Академия наук Казахской ССР, 1966. - Т.9
- 9 Голоскоков В.Р. Иллюстрированный определитель растений Казахстана. - Алма-Ата: Наука, 1969. -Т.1. - 243 с.
- 10 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (Wayne, Pa.): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard - Second Edition. Document M27-A2.-2002. -P.22.
- 11 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, approved Standard - Seventh edition. Document M7 - A7. -2006. - P.26.

References

- 1 Tian A., Xu T., Liu K., Zou Q., Yan X. Anti-helicobacter pylori effect of total alkaloids of sophora alopecuroides in vivo // Chinese Medical Journal.-2014.-Vol. 127(13).-P. 2484-91.
- 2 Lu X., Lin B., Tang J.G., Cao Z., Hu Y. Study on the inhibitory effect of total alkaloids of Sophora alopecuroides on osteosarcoma cell growth // African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines.-2013. -Vol.11, N 1.-P. 172-5.
- 3 Liu M., Liu X.Y., Cheng J.F. Advance in the pharmacological research on matrine // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. - 2005. -Vol.28. - P. 801-804.
- 4 Zhang Y.F., Wang S.Z., Li Y.Y., Xiao Z.Y., Hu Z.L., Zhang J.P. Sophocarpine and marine inhibit the production of TNF and IL-6 in murine macrophages and prevent cachexia-related symptoms induced by colon 26 adenocarcinoma in mice // International Immunopharmacology. - 2008. -Vol. 8. - P. 1767-1772.
- 5 Lin W., Zhang J.P., Hu Z.L., Qian D.H. Inhibitory effect of matrine on lipopolysacchride induced tumor necrosis factor and interleukin-6 production from rat Kupffer cells // Yao Xue Xue Bao. - 1997. - Vol.32. -P. 93-96.
- 6 Xing N.L., Sha N., Yan H.X., Pang X.Y., Guan S.H., Yang M., Hua H.M., Wu L.J., Guo D.A. Isoprenylated flavonoids from the roots of Sophora tonkinensis // Phytochemistry Letters. - 2008. - Vol.1. - P.163-167.
- 7 Bach M.K., Brashler J.R. Inhibition of IgE and compound 48/80-induced histamine release by lectins // Immunology. - 1975. - Vol.29. - P. 371-386.
- 8 Pavlov, N.V. Flora Kazakhstan. - Alma-Ata: Akademija nauk Kazahskoj SSR, 1966. - Т.9
- 9 Goloskokov V.R. Illjustrirovannyj opredelitel' rastenij Kazahstana. - Alma-Ata: Nauka, 1969. -Т.1. - 243 s.
- 10 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (Wayne, Pa.): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard - Second Edition. Document M27-A2.-2002. -P.22.
- 11 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, approved Standard - Seventh edition. Document M7 - A7. -2006. - P.26.

Бияшева З.М., Хамдиева О.Х., Дьячков В.В., Зарипова Ю.А., Юшков А.В. Влияние альфа-излучения при распадах радона на развитие рака легких.....	118
Иващенко А.Т., Атамбаева Ш.А., Ниязова Р.Е., Пинский И.В. Гены, связанные с развитием инфаркта миокарда.....	124
Колумбаева С.Ж., Ловинская А.В., Шынбергенова Н.С., Рахимжанова А.А., Илиясова А.И., Бегимбетова Д.А., Воронова Н.В. Антигенотоксический эффект фиточая из корней и корневищ девясила (<i>Inula helenium L.</i>)	134
Ниязова Р.Е., Атамбаева Ш.А., Пыркова А.Ю., Иващенко А.Т. Ассоциации miRNA и mRNA генов, участвующих в развитии немелкоклеточного рака легких	142
Рсалиев А.С., Ыскакова Г.Ш., Амирханова Н.Т., Пахратдинова Ж.У. Выявление доноров устойчивости мягкой пшеницы к желтой ржавчине	150
Туруспекоев Е.К., Рсалиев Ш.С., Рсалиев А.С., Еремкбаев К.А., Абуғалиева С.И. Поиск ДНК-маркеров устойчивости ячменя к стеблевой ржавчине	162
Успанов А.М., Токарев Ю.С., Казарцев И.А., Оразова С.Б., Васильева А.А., Смагулова Ш.Б., Дуйсембеков Б.А., Слямова Н.Д., Сагитов А.О., Леднев Г.Р. Полиморфизм нуклеотидных последовательностей генов, детерминирующих вирулентность энтомопатогенного гриба <i>Beauveria bassiana</i>	170

4-бөлім Раздел 4
Микробиология Микробиология

Бекмаханова Н.Е., Момбекова Г.А., Шемшурова О.Н., Сейтбатталова А.И. Антагонизм грибов рода <i>Trichoderma</i> в отношении возбудителей бобовых и кормовых культур.....	178
Глебова Т.И., Кливлеева Н.Г., Лукманова Г.В., Шаменова М.Г., Байсейіт С.Б., Таубаева Ш.Ж. Изучение спектра реактивности моноклональных антител к казахстанским изолятам вируса гриппа А(H1N1)	184
Ерназарова Г.И., Рамазанова А.А. Микробалдырлардың моно- және аралас дақылдарының физиологиялық корсеткіштеріне хромның әсері.....	190
Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К., Кирбаева Д.К., Болатхан К., Бауенова М.О., Сейілбек С.Н. Изучение качественного и количественного состава альгофлоры оз. Биликоль	196
Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К., Кирбаева Д.К., Болатхан К., Бауенова М.О., Құлымбетова А.О. Изучение видового разнообразия альгофлоры реки Илек и выделение микроводорослей перспективных для применения в биотехнологии.....	204
Калбаева А.М., Цуркан Я.С., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В. Микробиологическая оценка вод Каспия в районе месторождений углеводородного сырья полуострова Бузачи	212
Калбаева А.М., Цуркан Я.С., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В. Идентификация нефтеокисляющих микроорганизмов, выделенных из вод нефтеносных районов полуострова Бузачи.....	218
Қустова Т.С., Платаева А.К., Заворотная М.В., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В. Противомикробные свойства экстрактов <i>Vexibia alopecuroides</i>	224
Смагулова Ш.Б. Термолабильность казахстанских штаммов энтомопатогенного гриба <i>Beauveria pseudobassiana</i>	230
Смирнова И.Э., Саданов А.К., Джамантиков Х.Д. Биологический способ повышения плодородия почв.....	236
Треножникова Л.П., Галимбаева Р.Ш., Ултанбекова Г.Д., Балгимбаева А.С., Байдылдаева Ж.А., Таубекова Г.К. Изучение влияния биопрепаратов серии «Ризовит-АКС» на фенологические и биометрические показатели бобовых культур.....	242
Треножникова Л.П., Ултанбекова Г.Д., Балгимбаева А.С., Галимбаева Р.Ш., Ж.А. Байдылдаева Изучение антагонистических свойств экстремофильных актиномицетов к возбудителям грибковых заболеваний зерновых культур в разных экологических условиях.....	248
Шалгимбаева С.М., Садвакасова А.К., Акмуханова Н.Р., Жолдыбай М.Б., Кенжеева А.Н., Джумаханова Г.Б. Изучение влияния различных продукционных кормов на микробиоценоз форели и тилляпии	256