

## СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ, СТАНДАРТИЗАЦИЯ И СКРИНИНГ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА *HYPERICUM PERFORATUM* L.

А.А. Кочукова, А.А. Шмыгарева, О.О. Жеребятёва, Л.М. Азнабаева, Е.А. Михайлова

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет»

Поступила в редакцию 16.12.2024 г.

**Аннотация.** В данной статье представлены результаты, полученные в ходе исследования экстракта сырья зверобоя продырявленного, как потенциального источника для получения противомикробных и противогрибковых лекарственных средств.

Исследование антимикробной активности экстракта густого, полученного из лекарственного растительного сырья *Hypericum perforatum* L., является важным аспектом в контексте разработки новых фитопрепаратов в условиях импортозамещения. С точки зрения химического состава в зверобое содержатся антраценпроизводные (гиперицин), флавоноиды (гиперфорин), и фенилпропаноиды, которые обладают различными биологическими свойствами, включая антибактериальную и противовоспалительную активность. Основной целью исследования является скрининг антимикробной активности водно-спиртового извлечения и смолистых веществ зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) в разных разведениях в отношении этиологически значимых для человека микроорганизмов: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *B. subtilis* и грибов *Candida spp.* Объектами исследования служили экстракт густой и смолистые вещества зверобоя продырявленного, полученные экстрагированием травы зверобоя 70% спиртом в соотношении 1:10. Условия экстракции: 30 минут на кипящей водяной бане, при температуре 90° С, с использованием ультразвуковой ванны, и дальнейшем отстаиванием экстракта, для выделения смолы. Количественное содержание суммы флавоноидов в густом экстракте зверобоя определялось спектрофотометрическим методом, что дало возможность оценить содержание активных компонентов и связать его с антимикробной активностью. Антимикробную активность экстракта и выделенных смол оценивали по снижению показателей микробной обсеменённости образцов после соинкубирования и изменению персистентной способности условно – патогенных микроорганизмов.

Итогом работы является:

- разработанная методика получения густого экстракта зверобоя с использованием ультразвука, и дальнейшей оптимизацией методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в полученном экстракте;
- изученная антимикробная активность густого экстракта и смолистых веществ зверобоя продырявленного в отношении наиболее распространенных штаммов микроорганизмов, которые являются возбудителями инфекций верхних дыхательных, а также мочевыводящих путей.
- обнаруженное ингибирующее действие изучаемых фитопрепаратов на персистентную способность условно – патогенных микроорганизмов.
- установленная зависимость между количественным содержанием суммы флавоноидов и степенью антимикробной активности.

**Ключевые слова:** *Hypericum perforatum* L., экстракт зверобоя, смолистые вещества, лекарственное растительное сырье, антибактериальное действие, условно-патогенная микрофлора, персистенция.

В последние годы актуален вопрос импортозамещения зарубежных препаратов отечественными, все активнее ведется поиск и разработка новых

лекарственных средств. Одним из перспективных источников биологически активных веществ является лекарственное растительное сырье, в частности исследуемая нами трава зверобоя. Данный вид сырья активно исследуется современными учеными, так как обладает антибактериальными,

противовирусными, противовоспалительными, вяжущими, диуретическими, антидепрессивными, антиоксидантными, противоопухолевыми, иммуностропными и адаптогенными свойствами.

Воспалительные процессы в организме могут быть вызваны специфическими патогенами, а также условно-патогенной микрофлорой, что может привести к хроническому, латентному рецидивирующему течению. Стоит отметить, что даже рациональная антимикробная терапия не всегда обеспечивает полное выздоровление. Это связано с тем, что после микробного воспаления и часто длительного использования химиотерапевтических препаратов формируется микробиоценоз с отобранными вирулентными условно-патогенными симбионтами, которые продолжают поддерживать микробиологический дисбаланс. Среди условно-патогенных микроорганизмов, представителей нормальной микрофлоры человеческого тела, значимыми этиологическими агентами могут быть грамположительные кокки, главным образом коагулазоотрицательные стафилококки, грамотрицательные палочки семейства *Enterobacteriaceae*, такие как *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*, а также дрожжевые грибки рода *Candida spp.* [11].

Вследствие неконтролируемого и широкого применения антимикробных лекарственных препаратов возникла проблема резистентности микроорганизмов. В связи с этим актуально расширение ассортимента эффективных, мягкодействующих, малотоксичных и хорошо переносимых фитопрепаратов из сырья зверобоя, которое содержит активные компоненты, такие как антраценпроизводные (гиперицин), флавоноиды (рутин, кверцетин, гиперозид), фенилпропаноиды (хлорогеновая кислота) и гиперфорин, смолистые вещества (до 10%), а также макро- и микроэлементы [3, 4, 7, 9].

Антибактериальные свойства гиперфорина, как ведущего активного компонента в составе травы зверобоя, были описаны русскими учеными в 1976 г. Было показано, что гиперфорин в очень малых концентрациях (1,0 мкг/мл) замедляет рост многих грамположительных бактерий. Даже полирезистентные штаммы золотистого стафилококка восприимчиво реагировали на гиперфорин. Последующие клинические исследования обосновали микробиологические лабораторные заключения, которые показали, что после использования крема с гиперфорином количество микроорганизмов на коже сокращается, а, как следствие, инфицированные экзематозные пора-

жения уменьшаются [2, 17]. Современные ученые Куркин В.А. и Правдивцева О.Е. провели исследования по установлению антибактериальной активности многоатомных фенольных соединений: пирогаллол, флороглюцин и гиперфорин [10 – 15].

Ученые Германии на основе травы зверобоя создали крем Бедан, который в своем составе содержит гиперфорин [17, 19].

Препараты на основе зверобоя, в том числе эфирное масло, активны в отношении стафилококка, устойчивого к пенициллину, стрептококка, сальмонелл и шигелл [9, 19]. Летучие фракции и сок обладают протистоцидным и бактериостатическими свойствами [5]. В исследованиях на бактериальных культурах патентованного экстракта «Аурон» (сбор) выявлена митотическая, фагоцитарная, антибактериальная и антиоксидантная активность [9].

Несмотря на широкий ассортимент лекарственных форм зверобоя, продолжают исследования по оптимизации способов извлечения биологически активных веществ (БАВ) из сырья *Hypericum perforatum* L. [2, 17, 19].

В связи с этим, безусловно, представляет интерес исследование лекарственного растительного сырья зверобоя, полученного с помощью модифицированной методики получения и оценки содержания флавоноидов, обладающего потенциалом антибактериальной и фунгицидной активности.

**Цель исследования:** скрининг антимикробной активности водно-спиртового извлечения и смолистых веществ из зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) полученного по разработанной методике в отношении этиологически значимых для человека микроорганизмов: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis* и грибов *Candida spp.*

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве материала для исследования использовали: траву зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) производства АО «Красногорсклексредства» г.Москва, 2023 г.

Сырье экстрагировали 70% спиртом этиловым в соотношении сырье:экстрагент 1:10 в течение 30 минут на кипящей водяной бане при температуре 90° С, с дальнейшим использованием ультразвуковой бани (15 минут) [1], для полноты удаления экстрагента использовали роторный испаритель «ИР-1 ЛТ». [6, 12, 13]

После отстаивания густого экстракта смолы выпадали в осадок, которые в дальнейшем были выделены для микробиологического изучения.

Контроль количественного состава биологически активных веществ (флавоноидов) в густом экстракте проводили методом спектрофотометрии, согласно методике, приведенной ниже [8, 14].

Методика количественного определения суммы флавоноидов в водно-спиртовых извлечениях из сырья зверобоя продырявленного

Точную навеску густого экстракта (0,2000 г.) помещают в мерную колбу объемом 25 мл и доводят 70% спиртом этиловым до метки (раствор А).

В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 1 мл раствора А, 2 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и доводят объем раствора спиртом 96 % до метки.

Через 40 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 415 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл раствора А и 0,1 мл уксусной кислоты разведенной, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в густом экстракте в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times 25 \times 25}{248 \times a \times 1},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  – 248 – удельный показатель поглощения комплекса рутина с алюминия хлоридом при длине волны 415 нм; а – навеска сырья, в граммах.

Методики изучения антимикробного действия густых экстрактов лекарственных растений на рост микроорганизмов.

В качестве объектов использовали клинические изоляты стафилококков (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*), бациллы (*Bacillus subtilis*) и грибы рода *Candida spp.* (коллекция кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии ОрГМУ). Каждый вид микроорганизмов был представлен десятью штаммами. Принадлежность тестируемого микроорганизма к определенному виду (роду) определяли по стандартизированным методикам MALDI-TOF MS («Vitek MS», «bioMérieux», Франция) путем сравнения белкового спектра изучаемого штамма с базовой коллекцией спектров референсных микроорганизмов известных видов.

*Escherichia* и *Klebsiella* культивировали на агаре и бульоне Мюллера-Хинтона (Himedia, Индия) в течение 18-20 ч при температуре 37 °С. Для куль-

тивирования *Staphylococcus* использовали *Nutrient agar* и *Nutrient broth* (Himedia, Индия) и среду ГРМ (Оболensk, Россия) в течение 18-20 ч при температуре 37°С. Для культивирования *Bacillus* использовали *Nutrient agar* и *Nutrient broth* (Himedia, Индия); культуру выращивали сутки. Культивирование грибов рода *Candida* проводили на среде Сабуро при 30-37°С в течение двух суток.

Для оценки стерильности изучаемых растворов проводили микроскопию образцов и посев на обогащенную питательную среду (Колумбийский агар с 5% бараньей кровью, bioMérieux SA). Испытуемые растворы не дали роста каких-либо микроорганизмов на среде. Учитывая, что для эксперимента были выбраны в качестве объектов факультативно-анаэробные микроорганизмы, для культивирования которых не предусмотрено создание анаэробных условий, было принято решение считать растворы пригодными по микробиологическим критериям для реализации целей эксперимента.

Оценку антимикробного эффекта проводили диффузионным методом. Для этого приготовленную суспензию микроорганизмов (соответствующую по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда и содержащую  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл) наносили пипеткой на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 1-2 мл, равномерно распределяли по поверхности покачиванием, после чего удаляли избыток инокулюма пипеткой. Приоткрытые на 1 мм чашки подсушивали при комнатной температуре в течение 10-15 мин. Не позднее, чем через 15 мин после инокуляции на поверхности питательной среды с помощью стерильного одноразового шприца делали лунки, в которые вносили 50 мкл изучаемого экстракта растения: цельного и разведенного в соотношении 1:1, 1:5 стерильным изотоническим раствором натрия хлорида. Расстояние между лунками и до края чашки составляло 15-20 мм. После нанесения изучаемых веществ чашки инкубировали в термостате при температуре 35°С в течение 18-48 ч (в зависимости от вида тестируемого микроорганизма).

Способность фитопрепаратов модифицировать персистентные фактора бактерий оценивали в отношении антимурамидазной активности (АнМА). В питательный бульон (НПО «Беллар», Оболensk) добавляли экстракты и 1% взвесь исследуемых микроорганизмов ( $10^9$  КОЕ /мл После инкубации при 37°С в течение 2 часов определяли АнМА. В качестве контроля вместо фитопрепаратов использовали стерильный изотонический раствор хлорида натрия. При снижении АнМА

на 20% процентов и более по сравнению с контролем, препарат считали эффективным. АнМА бактерий определяли чашечным методом, в основу которого положен принцип отсроченного антагонизма. В питательный агар вносили препарат яичного лизоцима, разведённый в растворе NaCl до концентраций от 0 мкг /мл до 10 мкг /мл. На поверхность агара наносили «пяточками» культуры. После 24-х часовой инкубации при 37°C выросшие колонии убивали парами хлороформа – 30 минут. Затем препарат покрывали 4 мл 0,7% агара, смешанного с 0,1 мл взвеси 10 ед. оптического стандарта мутности тест штамма *M. luteus* ATCC 1530. Через сутки проводили учёт результатов по наличию роста микрококка. АнМА выражали в миллиграммах на миллилитр среды.

Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием программ «Excel», «StatPlus v5» согласно Методическим указаниям по статистической обработке результатов доклинических исследований [16].

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В соответствии с ранее предложенной нами методикой количественного определения суммы флавоноидов в густом экстракте зверобоя (оптимальные условия экстрагирования: соотношение «сырье: экстрагент» 1:10, экстрагент - спирт 70%, время экстракции – 30 минут на водяной бане, с последующим использованием ультразвуковой ванны (15 минут).

В ходе исследования оценивали влияние вакуумного кипения на полноту извлечения действующих веществ и совместное воздействие УЗ с вакуумным кипением. Эксперимент показал максимальное извлечение БАВ только при использовании ультразвукового воздействия, поэтому остальные методики извлечения мы в дальнейшем не учитывали.

Было проведено исследование густого экстракта зверобоя по показателю количественного содержания действующих веществ. Результат исследования УФ-спектра водно-спиртового извлечения показал, что максимум поглощения раствора с 2% раствором алюминия хлорида, находится в области спектра при  $415 \pm 2$  нм, что соответствует

максимуму поглощения рутина. Таким образом, целесообразно рассчитывать содержание суммы флавоноидов, в пересчете на рутин (рис.1).

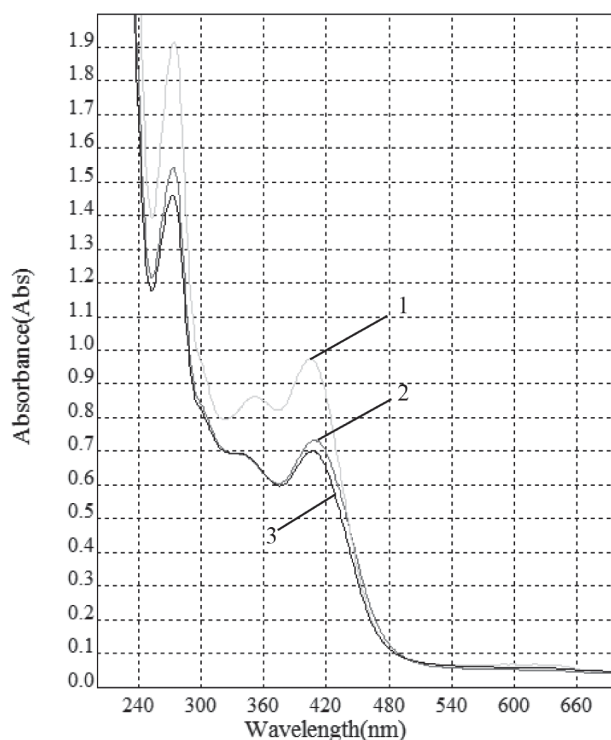


Рис. 1. УФ-спектр густого экстракта из сырья зверобоя с 2% раствором алюминия хлорида. Обозначения: 1 – экстракт получен с использованием ультразвука (УЗ); 2 – УЗ + вакуумное экстрагирование; 3 – вакуумное экстрагирование.

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в экстракте зверобоя составило 2,56% (табл. 1).

Результаты статистической обработки проведенных исследований свидетельствуют о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в экстракте зверобоя составляет  $\pm 6,21\%$ , (табл. 1).

Оценка влияния экстрактов и смолистых веществ зверобоя продырявленного, полученных с помощью, разработанной авторами методики, на рост микроорганизмов показала, что в отношении всех тест – культур отмечался ингибирующий эффект фитопрепаратов. Степень задержки роста штаммов зависела от их таксономической

Таблица 1

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в густом экстракте зверобоя

	f	$\bar{X}$	S	P, %	t (P,f)	D	E, %
Зверобой продырявленный ( <i>Hypericum perforatum</i> L.)	10	2,56	0,0712	95	2,23	0,1589	6,21



принадлежности и концентрации действующего вещества. Результаты изучения антимикробной активности густого экстракта и смолистых веществ травы зверобоя, проведенного в условиях *in vitro* на тест-культурах штаммов *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus subtilis* и грибов *Candida spp.* представлены на рисунке 2.

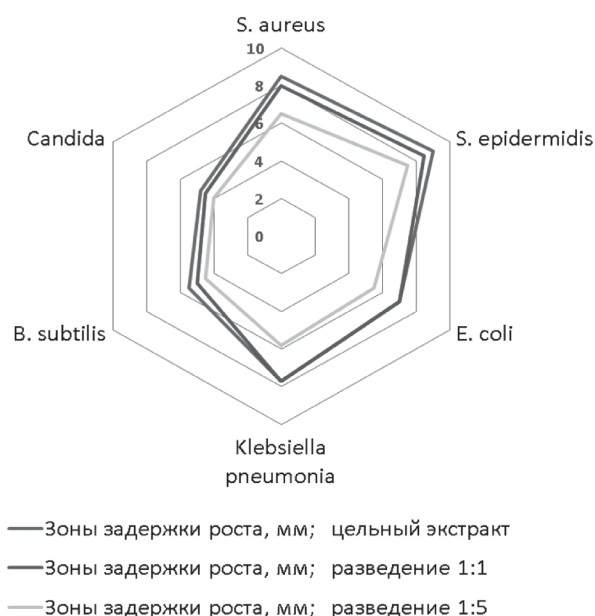


Рис. 2. Выраженность антимикробного эффекта густого экстракта и смолистых веществ травы *Hypericum perforatum L.*

Антимикробные компоненты лекарственных растений часто попадают в места обитания микроорганизмов в субингибиторных концентрациях. В этой ситуации становится важным влияние препарата не только на способность микробного агента к росту, но и на его вирулентные свойства, в первую очередь, обеспечивающие ему выживание в условиях контакта с эффекторами иммунитета. Одним из факторов ускользания микроба от естественной резистентности хозяина, является его способность деградировать мурамидазу, то есть антимурамидазная активность. Именно это свойство инфекта можно считать фактором длительного выживания – персистенции, в макроорганизме, а изменение его параметров служит важным показателем вирулентности. Результаты воздействия исследуемой растительной субстанции на АнМА представлены на рисунке 3.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе исследования разработана методика получения густого экстракта зверобоя с использо-

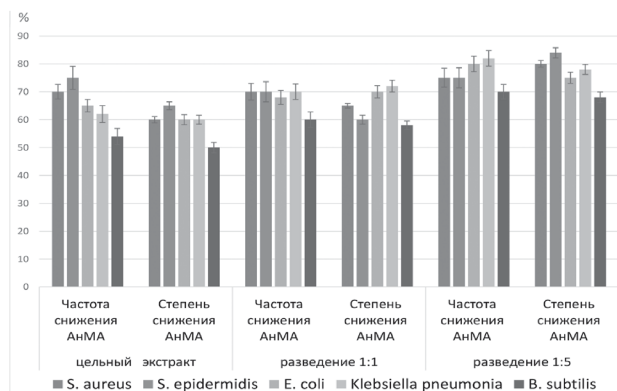


Рис. 3. Снижение антимурамидазной активности бактерий густым экстрактом и смолистыми веществами травы *Hypericum perforatum L.*

ванием ультразвука, а также оптимизирована методика количественного определения содержания суммы флавоноидов в полученном экстракте.

Изучена в экспериментах *in vitro* антимикробная активность густого экстракта и смолистых веществ зверобоя продырявленного, полученного разработанным авторами методом в отношении наиболее распространенных штаммов, которые являются возбудителями инфекций верхних дыхательных, а также мочевыводящих путей.

Показано, что растительный препарат в одинаковой концентрации оказывает различное по степени выраженности губительное действие на тест – культуры микроорганизмов, относящихся к разным таксонам. Вместе с тем, ингибирующий эффект на один и тот же вид микроорганизма зависит от концентрации действующего вещества и был максимальным для цельного экстракта.

Таким образом, установлена зависимость между количественным содержанием суммы флавоноидов и степенью антимикробной активности.

Учитывая, что при введении *in vivo* антимикробный растительный компонент достигнет микробиоценоза в безусловно более низкой концентрации, чем в первоначально полученном препарате, заслуживающей внимания оказалась выраженная способность разведённого 1:5 препарата зверобоя снижать персистентный потенциал бактерий. Принимая во внимание, что многие микробные агенты воспалительных процессов в организме являются представителями нормальной микрофлоры, то целью применения лекарственного препарата следует считать не абсолютную элиминацию этиологически значимого микроорганизма, а снижение его вирулентного потенциала. [18]. Эта способность и была отмечена у низких концентраций полученной растительной

субстанции. Возможно, будучи компонентом природного происхождения, исследуемое вещество включается в биогенез бактерии и обеспечивает снижение АНМА [18].

Таким образом, экстракт густой и смолистых веществ травы *Hypericum perforatum* L., полученные разработанным авторами технологически простым и быстрым способом, может рассматриваться как растительный препарат, имеющий широкий антимикробный спектр действия и способный снижать персистентные свойства условно патогенных микроорганизмов, приводить к постепенному, но стойкому восстановлению микробного сообщества биотопов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акопян В.Б. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами / В.Б. Акопян, Ю.А. Ершов. – Москва: МГТУ им. Н.Э.Баумана, 2005. – 203 с.
2. Афанасьев Д. Препараты зверобоя — клинические эффекты топического применения / Д. Афанасьев // Новая медицина тысячелетия. — 2014. — № 1. — С. 36-40.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации: Вып. 2. / МЗ РФ. 14-е изд. - М.: Медицина, 2018. - 3262 с.
4. Государственный реестр лекарственных средств. - Т.1. Официальное издание. М., 2008. - 1398 с.
5. Громова Н.М. Фармакогностическое изучение европейских видов зверобоя *Hypericum perforatum* L. и *H. quadrangulum* L.: автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук. М., 1952. 14 с.
6. Дорофеева Н.В. Влияние различных режимов экстрагирования на выход флавоноидов из травы зверобоя продырявленного (*HERBA HYPERICI PERFORATI* L.) / А.А. Кочукова // IV Межвузовская научно-практическая конференция с международным участием «Современные проблемы фармакогнозии», посвященная 100-летию Самарского государственного медицинского университета (Самара, 28 октября 2019 г.): Сборник материалов, Самара, 28 октября 2019 г. – С. 133.
7. Куркин В.А. Актуальные аспекты стандартизации видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею российской федерации XIII издания / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, В.Б. Браславский, В.М. Рыжов, М.В. Егоров, В.В. Стеняева, Н.Р. Варина, А.В. Егорова, Л.В. Тарасенко, Т.К. Рязанова, А.И. Хусаинова, П.В. Афанасьева, Д.В. Росихин, А.А. Шмыгарева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2016. – т. 18, №2(3). – С.730–736.
8. Куркин В.А. Актуальные аспекты стандартизации лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, А.В. Куркина, О.Е. Правдивцева, В.Б. Браславский, В.М. Рыжов, М.В. Егоров, В.В. Стеняева, Н.Р. Варина, А.В. Егорова, Л.В. Тарасенко, Т.К. Рязанова, А.И. Хусаинова, П.В. Афанасьева, Д. В. Росихин, А.А. Шмыгарева // «Современные проблемы фармакогнозии»: сборник I межвузовской студенческой научно-практической конференции. – Самара, 2016. - С. 163-180.
9. Куркин В.А. Основы фитотерапии: Учебное пособие для студентов фармацевтических вузов. - Самара: ООО «Офорт», ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2009. 963 с.
10. Куркин В.А. Фармакогнозия: Учебник для студентов фармацевтических вузов. - Изд. 5-е, перераб. и доп. – Самара: ООО «Полиграфическое объединение «Стандарт»», ФГБОУ ВО «СамГМУ», 2020. - 1278 с.
11. Куркин В.А. Флавоноиды надземной части *Hypericum perforatum* / О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин // Химия природных соединений. 2007. № 5. С. 512–513.
12. Меньшутин Н.В., Инновационные технологии и оборудование фармацевтического производства. Учебное пособие. В 2-х томах. - Т.1 / Меньшутин Н. В., Гусева Е. В., и др. – Москва: БИНОМ, 2023. – 328 с.
13. Меньшутин Н.В., Инновационные технологии и оборудование фармацевтического производства. Учебное пособие. В 2-х томах. - Т.2 / Меньшутин Н. В., Гусева Е. В., и др. – Москва: БИНОМ, 2023. – 480 с.
14. Пономарев В.Д. Экстрагирование лекарственного сырья. М., Медицина, 1976, 204с.
15. Правдивцева О.Е. Исследование химического состава надземной части *Hypericum perforatum* L. / О.Е. Правдивцева, В.А. Куркин // Медицинский альманах. 2012. № 5(24). С. 204–206.
16. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Издание 2-е, переработанное и дополненное. – Москва: Издательство «Медицина», 2005. – 832 с. – ISBN 5-225-04219-8. – EDN QСПОВ.
17. Bone K. Principles and practice of phytotherapy: modern herbal medicine / K. Bone, S.

Mills // Elsevier Health Sciences. — 2013. — P. 835.

18. Bukharin O. V. Medicinal plant effect on antilysozyme activity of microorganisms / O. V. Bukharin, O. E. Chelpachenko, B. J. Usvyatsev, LS Zyкова, AV Valyshev, SV Fomicheva, AV Tarasevich, NB Perunova, E.A.Mikhailova // Antibiotics and

chemotherapy. – 2003. – Vol. 48, No. 5. – P. 11-14. – EDN MPOAXF.

19. Muller W.E., Singer A., Wonnemann M. Hyperforin – antidepressant activity by a novel mechanism of action. Pharmacopsychiatry, 2001, vol. 34, no. 1, pp. 98–102.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

\*Кочукова Анна Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии

E-mail: annet512@rambler.ru

Шмыгарева Анна Анатольевна, доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии

E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Жеребятьева Ольга Олеговна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии

E-mail: Fenixmihail@yandex.ru

Азнабаева Лилия Мидехатевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии

E-mail: lkhus@yandex.ru

Михайлова Елена Алексеевна, доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии

E-mail: lelanaalekseevna@yandex.ru

Orenburg State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

\*Kochukova Anna A., PhD., Associate Professor of the Department of Pharmacy Management and Economics, Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy

E-mail: annet512@rambler.ru

Shmygareva Anna A., PhD., DSci., Associate Professor, Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy Orenburg

E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Zherebyatyeva Olga O., PhD., Associate Professor, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology, Immunology

E-mail: Fenixmihail@yandex.ru

Aznabayeva Lilia M., PhD., Associate Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology

E-mail: lkhus@yandex.ru

Mikhailova Elena A., PhD., Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology

E-mail: lelanaalekseevna@yandex.ru

## METHOD OF OBTAINING, STANDARDIZATION AND SCREENING OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *HYPERICUM PERFORATUM* L. DENSE EXTRACT

A.A. Kochukova, A.A. Shmygareva, O.O. Zherebyatyeva, L.M. Aznabayeva, E.A. Mikhailova

Orenburg State Medical University

**Abstract.** This article presents the results, obtained in the course of the study of the extract from raw materials of *Hypericum perforatum* L., as a potential source for obtaining antimicrobial and antifungal drugs. The study of the antimicrobial activity of a thick extract obtained from medicinal plant raw materials *Hypericum perforatum* L. is an important aspect in the context of the development of new herbal medicines in conditions of import substitution. From the point of view of chemical composition, *Hypericum perforatum* contains anthracene derivatives (hypericin), flavonoids (hyperforin), and phenylpropanoids, which have

various biological properties, including antibacterial and anti-inflammatory activity. The main objective of the study is to screen the antimicrobial activity of the aqueous-alcoholic extract and resinous substances of *Hypericum perforatum* L. in different dilutions against microorganisms etiologically significant for humans: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *B. subtilis* and *Candida spp.* fungi. The objects of the study were the thick extract and resinous substances of *Hypericum perforatum* L. obtained by extracting herb with 70% alcohol in a ratio of 1:10. Extraction conditions: 30 minutes in a boiling water bath at a temperature of 90° C, using an ultrasonic bath, and then settling the extract to isolate the resin. The quantitative content of the sum of flavonoids in the dense extract of *Hypericum perforatum* L. was determined spectrophotometrically, which made it possible to estimate the content of active components and associate it with antimicrobial activity. The antimicrobial activity of the extract and isolated resins was assessed by reducing the microbial contamination of the samples after coincubation and by changing the persistent ability of opportunistic microorganisms.

The results of the work are:

- a developed method for obtaining a thick extract of *Hypericum perforatum* L. using ultrasound, and further optimization of the method for quantitatively determining the content of flavonoids in the resulting extract;
- studied antimicrobial activity of the dense extract and resinous substances of *Hypericum perforatum* L. against the most common strains of microorganisms that cause upper respiratory tract infections, as well as urinary tract infections.
- detected inhibitory effect of the studied herbal preparations on the persistent ability of opportunistic microorganisms.
- established relationship between the quantitative content of flavonoids and the degree of antimicrobial activity.

**Keywords:** *Hypericum perforatum* L., St. John's wort extract, resinous substances, medicinal herbal raw materials, antibacterial effect, opportunistic microflora, persistence.