

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-профилактический факультет с отделением биологии
Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

На правах рукописи



Зулькарнаева Екатерина Шамильевна

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКИ
ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КОРНЕЙ И РАСТЕНИЙ, РАСТУЩИХ В
УСЛОВИЯХ *IN VIVO*

Руководитель:
профессор, д.б.н.



Б.Р. Кулуев

Уфа – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений	5
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Различные виды биологических активностей	
1.2. Биологически активные вещества лекарственных растений	
1.2.1. Терпеноиды	
1.2.2. Фенольные соединения	
1.2.3. Гликозиды	
1.3. Описание отдельных видов растений и их биологические активности	
1.3.1. Витания снотворная	
1.3.2. Водяной орех	
1.3.3. Имбирь аптечный	
1.3.4. Хлопчатник	
1.3.5. Чеснок	
1.3.6. Табак обыкновенный	
1.3.7. Каланхоэ Дегремона	
1.3.8. Алоэ вера и алоэ древовидное	
1.3.9. Перец-чили	
1.3.10. Клюква крупноплодная	
1.3.11. Можжевельник обыкновенный	
1.3.12. Зверобой	
1.3.13. Подорожник большой	
1.3.14. Толокнянка обыкновенная	
1.3.15. Лук репчатый	
1.4. Наиболее распространенные патогенные бактерии	
1.4.1. <i>Escherichia coli</i>	
1.4.2. <i>Streptococcus spp</i>	
1.4.3. <i>Streptococcus mitis</i>	

1.4.4. *Staphylococcus aureus*

1.4.5. *Candida albicans*

1.5. Применение БАВ

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объект исследования

2.2. Получение культур бородатых корней *Withania somnifera*

2.3. Приготовление питательных сред для выращивания бактерий

2.4. Приготовление экстракта растений

2.5. Определение антимикробной активности диско-диффузионным методом

2.6. Статистическая обработка полученных результатов

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Escherichia coli* XL1 Blue

3.2. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Escherichia coli*

3.3. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Candida albicans*

3.4. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Staphylococcus aureus*

3.5. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Streptococcus mitis*

3.6. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Streptococcus sobrinus*

3.7. Антибактериальная активность гексановых экстрактов

3.8. Антибактериальная активность водных экстрактов

3.9. Антибактериальная активность спиртовых экстрактов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

55

ВЫВОДЫ

57

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

58

Список сокращений

АФК – активные формы кислорода.

БАВ – биологически активные вещества

МС – Мурасиге-Скуга

ЭГКП – энтерогеморрагическая кишечная палочка.

ЭПКП – энтеропатогенная кишечная палочка

ЭТКП – энтеротоксигенная кишечная палочка

ЭИКП – энтероинвазивная кишечная палочка

VGS – *viridans group streptococci*

Актуальность исследования

В последнее время для лечения инфекционных заболеваний, возникших вследствие заражения патогенными видами микроорганизмов в подавляющем большинстве случаев используют антибиотики, сульфаниламиды, противогрибковые препараты, противовирусные препараты и т.д., забывая о существовании природных антимикробных соединений (Бойко, 2014.)

Растения используются для получения лекарственных препаратов, для лечения и профилактики различных заболеваний. На сегодняшний день известно, что более одной трети препаратов, применяемых для лечения, изготавливается из растений по данным Государственного реестра лекарственных средств МЗ РФ (Государственный реестр лекарственных средств, 2001; Муравьёва, 1991; Гусев, 2010). А в фитотерапии в целом используется приблизительно две тысячи видов растений (Махлаюк, 1992). Но человечество использует далеко не все биоразнообразие лекарственных растений, в связи с недостатком данных о ресурсах, химическом составе и малой изученностью свойств фитопрепаратов (Гусев, 2008). На данный момент одной из актуальных проблем в биологической и медицинской науке является поиск новых источников лекарственного растительного сырья, что позволило бы расширить ассортимент лекарственных средств изготовленных из растений.

В различных областях науки растения используют для получения больших количеств вторичных метаболитов. Растительные клетки обладают всеми качествами для продукции биологически активных сложных белков. Доля биологически активной формы в рекомбинантном белке, для синтеза которого были использованы растительные клетки, очень высока.

Исследование антимикробных свойств генетически трансформированных корней и растений, растущих в условиях *in vivo*

будет полезным в науке и практике, а свойства этих корней и растений в целом помогут сделать процесс более выгодным в промышленном плане.

Цель исследования

Определение антимикробной активности экстрактов генетически трансформированных корней витании и табака, а также растений, растущих в условиях *in vivo*.

Задачи исследования

1. Получение косматых корней витании и табака.
2. Выделение экстрактов из косматых корней витании и табака.
3. Выделение экстрактов из различных видов растений, растущих *in vivo*.
4. Исследование антимикробных свойств растительных экстрактов на *Escherichia coli*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Научная новизна

Впервые была определена антимикробная активность косматых корней табака и витании. Впервые была определена антимикробная активность частей ряда растений, к примеру эндокарпиев и мезокарпиев плодов водяного ореха.

Практическая значимость

Водные и спиртовые экстракты эндокарпия плодов водяного ореха содержат метаболиты с антибактериальной активностью. Эти экстракты могут быть использованы для лечения от бактериальных инфекций. Представляет большой интерес выделение индивидуальных соединений с антибактериальной активностью, содержащихся в эндокарпии плодов водяного ореха.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Различные виды биологических активностей

Биологическая активность органических веществ (соединений) – связывание молекул органических соединений с рецепторными участками клеток (Шрага, 2003).

Существуют различные виды биологических активностей, среди которых можно выделить: антибактериальную, противогрибковую, противовирусную, противовоспалительную, противоопухолевую, антиоксидантную, иммуномодулирующую, антигепатотоксическую, противопротоzoйную, антимутагенную активности.

Противогрибковая активность – это активность, обладающая фунгицидным и фунгистатическим действием. В настоящее время наблюдается рост грибковых заболеваний, выявляются новые виды грибов, которые ранее считались непатогенными, появляется устойчивость возбудителей к лекарственным средствам.

Противовирусная активность. К примеру, грипп является высокоинфекционным заболеванием и представляет угрозу здоровью, а часто и жизни людей. Типичной особенностью эпидемий гриппа последних десятилетий является одновременная циркуляция среди населения вирусов гриппа типов А и В. Появление в 2009 г. среди человеческой популяции нового подтипа вируса гриппа H1N1, вызвавшего пандемию, особенно остро поставило вопрос о необходимости разработки новых эффективных противовирусных препаратов.

Противовоспалительная активность. Во многих случаях воспаление играет защитную роль, способствует ограничению очага повреждения и уничтожению инфекционного агента. Но при генерализированных формах такой процесс может приводить к значительному повреждению органов и тканей с нарушением их функции. В основе практически любого патологического процесса находится воспаление (Березовская, 2003). Противовоспалительные средства являются средствами выбора при

многочисленных заболеваниях. В связи с этим потребность в низкотоксичных и эффективных средствах является актуальной (Зыкова, 2014).

Противоопухолевая активность – нарушение развития истинных опухолей (рак, саркома и др.) и гемобластозов.

Антиоксидантная активность. Известно, что в развитии многих патохимических процессов определенную роль играют активные формы кислорода (АФК). Снижение активности естественной антиоксидантной системы организма связано со многими неблагоприятными факторами: это влияние ксенобиотиков, различные виды излучения, ухудшение экологической обстановки, широкое распространение социальных заболеваний, постоянные стрессы, потребление загрязненной пищи, неконтролируемый прием лекарственных препаратов (Аджиахметова, 2013).

Иммуномодулирующая активность – активность, способная оказывать регулирующее действие на иммунную систему. Иммуноterapia имеет большое значение, т.к. в последние десятилетия изменилось течение инфекционных заболеваний, увеличилась алергизация населения, а в клинической практике стали широко применять средства, подавляющие иммунные реакции (кортикостероиды, антибиотики широкого спектра действия).

Противопроtoзойная активность – активность, направленная против заболеваний, вызываемых паразитическими простейшими (это такие заболевания, как малярия, лямблии, токсоплазмоз, трихомониаз и др.)

Антимутагенная активность. Живущие на Земле существа подвергаются действию химических, физических и биогенных мутагенов в значительно большем масштабе, чем их предки. Широкая химизация промышленности и сельского хозяйства, все большее проникновение химических препаратов в быт, наряду с известными преимуществами, несут с собой опасность, связанную с увеличением мутационного груза в

популяциях растений, животных и людей. В процессе эволюции живые существа сформировали различные приспособления, направленные на сохранение видовой и индивидуальной специфики. Важная роль в защите организма от генотоксических воздействий принадлежит покровным тканям, способности печени и других органов осуществлять специфические физиологические реакции детоксикации мутагенов и, конечно, репарации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) – главной мишени действия мутагенов.

1.2. Биологически активные вещества лекарственных растений

В процессе роста и развития растения накапливают вещества первичного и вторичного синтеза. Вещества первичного синтеза – это белки, липиды и углеводы. Они отвечают за энергетический обмен клетки, выполняют пластическую функцию. К веществам вторичного синтеза относятся такие химические соединения, как флавоноиды, иридоиды, азотсодержащие вещества, фитонциды, эфирные масла, таниды, гликозиды, сапонины, ферменты, кумарины, органические кислоты, горечи и другие соединения. Эти вещества обладают фармакологической активностью (Муравьёва, 2002; Решетникова, 2004.) и терапевтическим действием. Вещества вторичного метаболизма называют биологически активными веществами (БАВ). Вторичные метаболиты делятся на четыре большие группы – алкалоиды, изопреноиды (терпеноиды), фенольные соединения и минорные соединения.

1.2.1. Терпеноиды

Иридоиды – это монотерпены, синтезирующиеся из изопрена. Иридоиды обладают фармакологическим действием, так как находятся во многих лекарственных растениях и обладают большим спектром биологической активности: антиоксидантной, противоопухолевой, противовирусной, антигепатотоксической, желчегонной,

гипогликемической, антимуtagenной, болеутоляющей, спазмолитической, слабительной, иммуномодулирующей, сердечно-сосудистой и противовоспалительной (Dinda, 2011; Tundis, 2008; Viljoen, 2012).

Фитонциды – летучие вещества, образуемые растениями, которые убивают или подавляют рост и развитие бактерий, простейших и микроскопических грибов. Фитонциды являются одним из природных факторов иммунитета растений.

Известно, что летучие фитонциды листьев дуба, эвкалипта, сосны и многих других деревьев, способны оказывать свое действие на расстоянии и сила их антимикробного действия разнообразна (Зелепуха, 1973). А фитонциды лука, чеснока, красного перца, хрена убивают многие виды бактерий в первые минуты воздействия.

Эфирные масла – это летучие, маслянистые, нерастворимые в воде жидкости с характерным сильным запахом.

Эти масла обладают антибактериальной, противогрибковой (Hammer, 2003), противовирусной, противовоспалительной (Koh, 2002), противоопухолевой, антиоксидантной и иммуномодулирующей активностью, являются полезными при сердечно-сосудистых, раковых заболеваниях, а также при болезни Альцгеймера (Perry, 2006; Jimbo, 2009; Smith, 2011; Shiina, 2008; Lai, 2011; Babar, 2015). На данный момент наблюдается повышенная тенденция использовать ароматерапию при лечении рака и расстройств сна (Marchand, 2014; Lee, 2015; Hwang, 2015).

Горечи – органические вещества растительного происхождения с ярко выраженным горьким вкусом. Растения, содержащие горечи обладают широкой биологической активностью, в том числе противоопухолевой, антибактериальной и активностью регулирующей сахар в крови (Feng, 2011; Li, 2009; Wang, 2009; Xia, 2011; Xiaoguang, 2017). Также фармакологические исследования показали, что горечи обладают противовоспалительной, противомикробной и цитотоксической активностями (Liao, 2011; Xu, 2006).

1.2.2. Фенольные соединения

Флавоноиды относятся к классу растительных полифенолов (flavonoids (isoflavonoids and neoflavonoids) // IUPAC Gold Book).

Особый интерес к флавоноидам начался после открытия в них антиоксидантных свойств и способностью их нейтрализовать свободные радикалы (Kasum, 2002), а также при борьбе с такими заболеваниями, как рак, атеросклероз, болезнь Альцгеймера и т.д. (Burak, 1999; Ovando, 2009; Lee, 2009; Panche, 2016). Затем было выяснено, что флавоноиды обладают противовоспалительными, противомутагенными, антиканцерогенными, антимикробными свойствами и способны изменять активность многих ферментов обмена веществ в организме человека (Khan, 2009; D'Mello, 2011; De Souza, 2016).

Таниды, или дубильные вещества – Группа разнообразных и сложных по составу, хорошо растворимых в воде и спирте, безазотистых ароматических соединений.

Таниды обладают рядом биологических активностей, из них можно выделить бактерицидную, фунгицидную (противогрибковую), антиоксидантную (Zhang, 2008) и противовирусную. Также характерны для них противовоспалительный и антитоксический эффекты.

1.2.3. Гликозиды

Гликозиды – это природные органические углеводсодержащие соединения. В состав их молекулы входит две части: углевод и неуглеводная часть – агликон, или генин. Углеводная и неуглеводная часть соединены между собой гликозидной связью, подобной сложноэфирной. Гликозиды хорошо растворимы в воде и спирте (Халецкий, 1966).

Гликозиды часто встречаются в растениях и обладают рядом биологических активностей: противоопухолевой (Juanjuan, 2014), противовоспалительной (Marilena, 2015), противогрибковой,

антибактериальной, антиоксидантной (Bamigboye, 2014), а также обладают цитотоксическим действием и индуцируют апоптоз (Yadollah, 2016).

Сапонины – высокомолекулярные сложные безазотистые органические соединения гликозидного характера. Обладают специфическими свойствами: при взбалтывании водного раствора из сырья, содержащего сапонины, образуют стойкую густую пену; в крови вызывают гемолиз эритроцитов.

Сапонины обладают иммуностимулирующей, антиканцерогенной, противовоспалительной, противомикробной, противопротозойной активностями и обладают антиоксидантными свойствами (Tessa Moses, 2014).

Считается, что сапонины играют важную роль в защите растений от патогенов, вредителей и травоядных из-за их противомикробных, противогрибковых, противопаразитарных, инсектицидных и противовоспалительных свойств (Augustin et al., 2011; Morrissey, 1999; Osbourn et al., 2011; Sparg et al., 2004). На содержание и качество сапонинов в растениях влияют абиотические факторы, вызывающие стресс у растений (De Costa et al., 2013; Szakiel et al., 2011).

Кумарины – это класс природных органических соединений с аллелопатическими свойствами (Niro, 2016). Кумарины обладают антикоагулирующим действием на кровь. Дикумарол, найденный в доннике белом, был предложен как антикоагулянт для лечения тромбозов. И сейчас есть препараты на основе дикумарола, обладающие антикоагулянтными свойствами (Краснов, 1987).

Фурукумарины повышают чувствительность кожи к ультрафиолетовым лучам. Они влияют на интенсивную пигментацию и способны вызвать сильные ожоги. Предполагается, что фурукумарины ускоряют образование меланина. Такое свойство фурукумаринов используется для лечения лейкодермии (Краснов, 1987).

Фурано- и пиранокумарины обладают спазмолитическим и коронарорасширяющим действием. Куместрол обладает эстрогенной активностью. Есть фурукумарины, обладающие противоопухолевой активностью. У некоторых кумаринов и фурукумаринов отмечена бактериостатическая и противогрибковая активность (Niro, 2016, Bing, 2012).

1.3. Описание отдельных видов использованных в ходе работы растений и их биологические активности.

1.3.1. Витания снотворная

Withania somnifera (L.) Dunal – лекарственное растение (Kumari M, 2015). Относится к семейству Solanaceae. Родиной витании снотворной является Индия.

Большой вклад в биологическую активность витании вносят особые стероиды – витаферины и витанозиды или, как еще их называют, ситоиндозиды (Harikrishnan, 2008). Также содержатся ацетилстерилгликозиды и алкалоиды, в том числе витасомнин, который обладает успокаивающими свойствами, тропин, гигрин, анферин (Geeta Singh, 2014). Недавно в витании были найдены еще и флавоноиды (Bano, 2015; Dar, 2015; Vanden, 2012; Mishra, 2000; Barnes 2016).

W. somnifera используется в качестве антиоксиданта (Barnes 2016), иммуномодулятора, обладает противовоспалительной, антибактериальной (Kaur, 2003; Manoharan, 2004) и противоопухолевой активностью (Khazal, 2012; Khazal, 2013; Khan, 2015).

1.3.2. Водяной орех

Trapa natans L. – однолетнее водное растение, происходящее из южных районов Евразии и Африки. Относится к роду Рогульниковых, семейству Дербенниковые (*Lythraceae*). Водяной орех вырастает до 5 м в длину, растет в заводях, озерах и старицах медленно текущих рек. Это

растение имеет характерный плод с одним крупным крахмалистым семенем (Губанов, 2003). Плод его является костянкой и состоит из трех оболочек: эндокарпия, мезокарпия и экзокарпия.

В водяном орехе содержатся различные вторичные метаболиты, такие как алкалоиды, флавоноиды, сапонины, танины, фотобаланины и антрахинон. Они отвечают за антимикробную активность (Joginder Singh, 2012), антиоксидантную и противоопухолевую активность (He, 2009; Prasad, 2010; Ван, 2006; Ю, 2009).

В России это растение относится к реликтам и встречается довольно редко. В Республике Башкортостан данное растение произрастает лишь в двух озерах Нуримановского района: Упканкуль и Бильгиляр (Шевченко и др., 2017). Имеются сведения, что водяной орех этого района относится к виду *Trapa sibirica* Fler. (Мулдашев, 2011). Плоды водяного ореха, называемые в народе «орехами» – это чёрно-бурые костянки с твёрдыми выростами в виде рогов. Внутри плода находится белое семя, которое можно употреблять в пищу, в том числе, в сыром виде (Кулуев и др., 2017). Плоды тяжелее воды, поэтому после отрыва от растения они сразу же тонут на дно, где они лежат до следующей весны, где и прорастают. Всхожесть семян водяного ореха может сохраняться до 50 лет (Красная книга Республики Беларусь), однако чаще всего семена прорастают в течение первых двух лет.

1.3.3. Имбирь аптечный

Zingiber officinale – многолетнее травянистое растение, относится к семейству Имбирные (Zingiberaceae). Его родиной являются страны Южной Азии. Сейчас выращивается в Индии, Австралии, Индонезии, Китае, Западной Африке, на Ямайке и Барбадосе.

В корневищах имбиря содержится эфирное масло около 1.5-3 %. Главные компоненты эфирного масла это альфа- и бета-цингиберены. Содержатся также линалоол, борнеол, камфен, цитраль, цинеол,

бисаболен. В имбире содержатся витамины В1, В2, С и незаменимые аминокислоты (Блинова, 1990).

Корневище имбиря широко применяется в медицине: при заболеваниях суставов (Drozdov, 2012), при язвенной болезни желудка (Haniadka, 2013), при нарушении жирового и холестерина обмена (Thomsona, 2002), вещество гингерол обладает антидиарейной активностью у мышей (Jaw-Chyun Chen, 2007), также имбирь обладает цитотоксической активностью при раковых заболеваниях (Li, 2018).

1.3.4. Хлопчатник

Gossypium barbadense Linn – многолетний кустарник, относящийся к семейству *Malvaceae*. Произрастает в тропических и субтропических районах.

Хлопчатник применяется в медицине при рвоте, опухолях, параличах, эпилепсии, судорогах, спазматических болях и при кожной и подкожной паразитарных инфекциях (Burkill, 1985). Он обладает противогрибковыми свойствами, листья используются при лечении гипертонии (Hasrat, 2004). Водный листовой экстракт обладают противомаларийным эффектом (Salako, 2012)

Хлопчатник содержит тритерпеноиды, сесквитерпеноиды, эфирное масло, которые обладают антимикробной, инсектицидной и цитотоксической активностями (Eugene, 2012).

1.3.5. Чеснок

Allium sativum Linn – многолетнее цветущее растение, достигающее до 30-60 см в высоту, относится к семейству *Alliaceae*. Имеет характерный резкий запах.

Чеснок традиционно используется в качестве антисептика, как отхаркивающее, антигипертензивное, стимулирующее средство, как афродизиак, антигельминтное, мочегонное, антисклеротическое и

противовирусное средство. Обладает рядом биологических активностей, которая включает антиоксидантную, инсектицидную, антиноцицептивную, антитрипаносомальную, противомикробную активности (Gupta, 2015; Bashir, 2016).

1.3.6. Табак обыкновенный

Nicotina tabacum L. – это многолетнее травянистое растение, принадлежит к семейству *Solanaceae*. Родиной табака является тропическая и субтропическая Америка, но на сегодняшний день он культивируется во всем мире. Листья и стебли табака липкие, покрыты мелкими вязко-железистыми волосками, которые выделяют секрет, содержащий никотин.

Листья табака используются в качестве седативного, спазмолитического, дерматитного, антисептического и наркотического средства. Отвар листьев применяется для расслабления спазмов и облегчения боли. Листья табака богаты различными полифенолами, которые обладают различными биологическими свойствами. Никотин, выделенный из табака показал антибактериальную активность против десяти различных грамотрицательных и грамположительных штаммов. Табак также обладает противогрибковой активностью против *Fusarium solani*. Также он используется для лечения туберкулеза и кашля. Флавоноиды табака обладают антиоксидантной активностью (Sharma, 2016).

1.3.7. Каланхоэ Дегремона

Kalanchoe daigremontiana – это суккулентное растение с прямыми стеблями и блестящими треугольными мясистыми листьями. Относится к семейству Толстянковые (*Crassulaceae*). Это растение размножается производя проростки вдоль края листьев (Yong-Soon, 2015).

В каланхоэ содержатся различные метаболиты, которые обладают противоопухолевыми, противовоспалительными и инсектицидными свойствами (Supratman et al., 2000, 2001).

1.3.8. Алоэ вера и алоэ древовидное

Aloe vera – это травянистое суккулентное лекарственное растение, относящееся к семейству Асфodelовые (*Asphodelaceae*). В диком виде встречается на Канарских островах (Arshad, 2015).

Aloe arborescens (Алоэ древовидное) – это вечнозеленое лекарственное растение, относящееся к семейству Асфodelовые (*Asphodelaceae*). Его естественным ареалом является Южная Африка (Keisuke, 1978).

В алоэ содержатся биологически активные вещества в большом количестве: витамины, минералы, сахараиды, аминокислоты, антрахиноны, ферменты, лигнины, сапонины и салициловая кислота (Shelton, 1991; Atherton 1997, 1998). Кроме того оно содержит каротиноиды, стероиды, терпены и фитостеролы (Samman, 1998). Алоэ обладает следующими активностями: противоопухолевой, антимикробной, антиоксидантной, противовоспалительной, противодиабетической, гепатопротекторной, иммуномодулирующей, противоязвенной (Arshad, 2015).

1.3.9. Перец-чили

Capsicum frutescens – это группа сортов перца, относящееся к роду *Capsicum*. Перец распространен в тропических и субтропических регионах (Md. Mominur, 2014). Плоды перца обладают сильно выраженным жгучим вкусом за счет содержания в них капсицина. Его родиной является Южная Индия, остров Ява.

Перец-чили не только съедобный овощ, он также используется для ингибирования роста такого желудочного патогенна как *Helicobacter pylori* (Saeed, 2006), ингибирует агрегацию тромбоцитов (Puett, 1973), а

также используется в качестве антидиабетического стимулятора GI и слабого мочегонного средства (Vinayaka, 2010; Barik, 2008).

1.3.10. Клюква крупноплодная

Vaccinium macrocarpon AIT. (1789) – это цветковое стелющееся растение с относительно крупными плодами, относящееся к семейству вересковые. Произрастает в Северной Америке, где выращивается в коммерческих целях.

Плоды клюквы содержат множество различных метаболитов, наибольшее значение среди которых играют соединения, относящиеся к подклассам флавоноидов (Ohnishi, 2006; Chen, 2001) и проантоцианидинов (Howell, 2005). Эти вещества обладают широким спектром биологических активностей, включая антиоксидантные, противомикробные, противовоспалительные, противоопухолевые и антидиабетические эффекты (Crittenden, 1996). Также новые данные показали, что олигосахариды клюквы тоже играют роль в пользе клюквы (Jiadong, 2016).

1.3.11. Можжевельник обыкновенный

Juniperus communis – это кустарник или маленькое вечнозеленое дерево с темными плодами, принадлежащее к семейству *Cupressaceae*. Его родиной является Европа, Южная Азия и Северная Америка. Можжевельник широко используется в качестве лекарственного растения из древних времен (Souravh, 2014).

Можжевельник обладает противовоспалительными свойствами (Modnicki, 2009), противогрибковой активностью (Abbassy, 2013), анальгетической активностью (Banerjee, 2012), гепатопротекторной активностью (Manvi, 2010), антидиабетической активностью и антигиперлипидемической активностью (Banerjee, 2013), антимикробной активностью (Pepeljnjak, 2005), антиоксидантной активностью (Hoferl, 2014), антигиперхолестеринемической активностью (Akdogan, 2012),

антибактериальной активностью (Sati, 2010), антикаталептотической активностью и нейропротективной активностью при болезни Паркинсона (Baïs, 2014). Спиртовые экстракты можжевельника содержат алкалоиды, флавоноиды, гликозиды, танины и стероиды. Широкий спектр биологических активностей достигается за счет таких химических соединений, как α -пинен, β -пинен, апигенин, сабинин, β -ситостерол, кампестерол, лимонен, купрасфлавон и многие другие.

1.3.12. Зверобой

Hypericum perforatum – лекарственное растение, относится к семейству *Hypericum*, встречается в Европе, Западной Азии, Северной Африке, Мадейре и Азорских островах (Wills, 2000).

Экстракт зверобоя содержит нафтодиоантроны, флорглюцинолы, флавоноиды, биофлавоноиды, фенилпропаноиды. Эти химические соединения способствуют заживлению ран, обладают противогрибковыми, противовоспалительными, антибактериальными и противовирусными свойствами (Butterweck, 2003; Milosevic, 2007). Зверобой имеет широкий спектр лекарственных действий на раны кожи, экзему, ожоги, заболевания пищеварительного тракта и психологические расстройства (Soheila, 2015).

1.3.13. Подорожник большой

Plantago major – это многолетнее травянистое растение с яйцевидными или эллиптическими листьями зеленого цвета. Подорожник большой относится к семейству Подорожниковые (*Plantaginaceae*), в России растет везде, кроме Крайнего Севера, считается сорняком.

Подорожник содержит полисахариды, иридоидный гликозид аукубин, каротиноиды, аскорбиновую кислоту, горькие вещества и холин. Также в подорожнике содержатся различные летучие соединения, такие как тритерпеноиды, фенольные кислоты и флавоноиды. Он обладает множеством полезных свойств: заживление ран, жаропонижающее,

противокашлевое, противoinфекционное, антигеморрагическое, противовоспалительное (Türel, 2009), мочегонное, слабительное, вяжущее, гемостатическое (Najafian, 2018), противоопухолевое (Chiang, 2003), иммуномодулирующее (Gomez-Flores, 2000).

1.3.14. Толокнянка обыкновенная

Arctostaphylos uva-ursi – это небольшой кустарник, относящийся к семейству Вересковые (*Ericaceae*). Приспособлен к жизни в арктическом и субарктическом климате.

В листьях толокнянки содержатся фенолгликозиды – эриколин, метил-арбутин, арбутин. Также флавоноиды, дубильные вещества, урсоловая кислота, свободный гидрохинон, фенолкарбоновые кислоты – галловая кислота. Толокнянка обладает мочегонным и дезинфицирующим свойством при уретритах, цистите и мочекаменной болезни. Она оказывает вяжущее действие на желудочно-кишечный тракт.

1.3.15. Лук репчатый

Allium cepa – многолетнее травянистое растение семейства Луковые (*Alliaceae*), распространен широко как овощная культура. Состоит из пленчатой луковицы и трубчатых зеленых листьев.

Лечебные свойства лука известны еще со времен Гиппократ. Лук обладает противоопухолевой, антиоксидантной, противомикробной, антитромбоцитарной активностями, которые были научно подтверждены (Mnayer, 2014; Munday, 2001; Sendl, 1995; Suleria, 2015). Недавние эксперименты показали, что лук обладает антипаразитарной активностью (Sonja, 2018). В луке содержатся различные сахара, белки, витамины, метаболиты, такие как фитонциды, сапонины, кверцетин, флавоноид, ферменты, минеральные соли калия, железа, фосфора и др.

1.4. Наиболее распространенные патогенные микроорганизмы, использованные для определения антимикробной активности растительных экстрактов

1.4.1. *E.coli*

Кишечные палочки являются комменсалом человека и подавляют рост гнилостных микроорганизмов. Большая часть кишечных палочек наблюдается в толстом отделе кишечника и по направлению к желудку их количество уменьшается. В желудке должна отсутствовать микробиота при его нормальном функционировании, так как желудочный сок обладает бактерицидными свойствами. Основную массу микробиоты кишечника составляют анаэробные бактерии. А на кишечную палочку приходится лишь 1-4 % всей кишечной микробиоты. Кишечная палочка в кишечнике выполняет положительную роль в пищеварении, витаминном балансе и в создании местного иммунитета. Но при различных обстоятельствах кишечная палочка является причиной патологических состояний: сепсис, холецистит, колит, цистит, энтерит.

Впервые кишечную палочку выделил Т. Эшерих в 1885 году из испражнений человека. Заболевания, которые вызывает кишечная палочка, называют эшерихиозами. Существует 4 группы *E. coli*, которые способны вызывать эшерихиозы, это энтеротоксигенные (ЭТКП), энтероинвазивные (ЭИКП), энтеропатогенные (ЭПКП) и энтерогеморрагические (ЭГКП) кишечные палочки.

1.4.2. *Streptococcus spp.*

Стрептококки группы А – это грамположительные патогенные микроорганизмы, которые являются возбудителями фарингита, импетиго, ревматической лихорадки и острого гломерулонефрита. В последнее десятилетие возродились инвазивные стрептококковые заболевания и ревматическая лихорадка с преобладанием серотипа М1. Также были

определены новые гены вирулентности за счет экспрессии гена *emm* (М белка) (Madeleine W, 2000; Samuel A, 2014).

1.4.3. *Streptococcus mitis*

S. mitis является членом группы *viridans group streptococci* (VGS) (Bichitrananda S, 2013). Это генетически гетерогенная группа бактерий, преобладающая в ротоглотке человека (Human Microbiome Project Consortium). VGS вызывают широкий спектр инфекций, включая бактериемию, инфекционный эндокардит и орбитальный целлюлит (Dix D, 2012). Однако, бактерии этой группы недостаточно хорошо изучены (Seo HS, 2010). Результаты пациентов с бактериемией VGS различаются: у некоторых людей симптомы не так сильно выражены, у других наблюдается тяжелая инфекция, характеризующаяся гипотонией и острым респираторным дистресс-синдромом (Bochud PY, 1994). Острые инфекции названы синдромом шока VGS (Gassas A, 2004).

1.4.4. *Staphylococcus aureus*

Золотистый стафилококк вызывает широкий спектр клинических инфекций. Он является ведущей причиной бактериемии и инфекционного эндокардита, а также остеоартикулярных, кожных и мягких тканей, плевропульмонарных инфекций (Steven, 2015). Около 30% людей являются носителями *S.aureus* (Wertheim, 2005).

1.4.5. *Candida albicans*

Candida albicans является членом обычного человеческого микробиома. У большинства людей *C. albicans* проживает как пожизненный, безобидный комменсал. Однако при определенных обстоятельствах *C. albicans* может вызывать инфекции, которые варьируются от поверхностных инфекций кожи до опасных для жизни системных инфекций. Было выявлено несколько факторов и видов

деятельности, которые способствуют патогенному развитию *C. albicans* (François, 2013). *C. albicans* присутствует в полости рта у 75% населения (Ruhnke, 2002). У здоровых людей с хорошим иммунитетом эти бактерии остаются доброкачественными. Однако у людей с иммунодефицитом могут возникать оральные инфекции, вызванные *C. albicans*. Примерно 75% всех женщин страдают по крайней мере один раз в своей жизни от вульвовагинального кандидоза (Hurley, 1979; Sobel, 2007).

1.5. Применение БАВ

Несомненно, нужно знать биологическую активность химических соединений, входящих в состав метаболитов растений. Это можно представить в виде перечня целей.

1-я цель: поиск химических соединений, которые обладают полезными свойствами для человеческого организма.

Нахождение полезных химических соединений решит множество актуальных и значимых задач, стоящих перед человечеством. К таким задачам можно отнести повышение устойчивости по отношению к вирусным и бактериальным заболеваниям и их лечение, профилактику и лечение неизлечимых или трудноизлечимых хронических заболеваний, исправление наследственных эффектов, регулирование рождаемости.

2-я цель: нахождение вредных и опасных биологических активностей у испытуемых химических соединений для человеческого организма.

Здесь следует учитывать, что в организм человека попадают химические соединения, используемые в сельском хозяйстве и пищевой промышленности, а также распространившиеся в биосфере химические соединения из-за производственной деятельности человека. Большую опасность представляют такие виды биологической активности, как тератогенная, мутагенная, эмбриотоксическая и канцерогенная.

3-я цель: найти химические соединения, которые влияют на равновесие созданных и естественных экосистем. Такие вещества очень нужны в

микробиологической промышленности, рыбному, лесному и сельскому хозяйству, для сохранения и развития природных биоценозов, которые находятся на грани гибели. Они могут иметь немалое значение в ликвидации эпидемий, опасных для человека и полезных видов организмов.

4-я цель: нахождение таких активностей у химических соединений, вызывающих опасное неконтролируемое или не точно прогнозируемое нарушение равновесия природных экосистем.

К такому типу биологической активности можно отнести способность химических соединений к резкому увеличению вероятности гибридизации любого вида микроорганизмов или вирусов.

5-я цель: найти такие химические соединения, которые могут быть реактивами для научных работ в медицине и биологии и которые могут привести к созданию новых методов исследований.

Опыт использования люминисцентных и парамагнитных зондов, различных ингибиторов митоза и биосинтеза и т. п. показывает, что данный подход один из наиболее эффективных в медико-биологических и биологических исследованиях последних лет.

6-я цель: накопление знаний, которые позволили бы наиболее точно предсказывать более широкий спектр видов биологической активности по химической структуре вещества для биологических объектов с известными свойствами и особенностями биологических структур на основании их реакции на воздействие химических соединений (Баренбойм,).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объект исследования

Объектом исследования служили следующие растения:

Генетически трансформированные корни табака (*Nicotiana tabacum*), генетически трансформированные корни витании (*Withania somnifera*), плоды водяного ореха (*Trapa sibirica*), плоды можжевельника (*Juniperus*

communis), зверобой (*Hypericum perforatum*), подорожник большой (*Plantago major*), толокнянка обыкновенная (*Arctostaphylos uva-ursi*), лук репчатый (*Allium cepa*), луковицы чеснока (*Allium sativum*), перец кайенский (*Capsicum frutescens*), имбирь аптечный (*Zingiber officinale*), каланхоэ Дегремона (*Kalanchoe daigremontiana*), листья табака обыкновенного (*Nicotiana tabacum*), плоды клюквы крупноплодной (*Vaccinium macrocarpon*), алоэ вера (*Aloe vera*), алоэ древовидное (*Aloe arborescens*), тладианта сомнительная (*Thladiantha dubia*).

Также объектом исследования служили следующие культуры бактерий:

Escherichia coli, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sobrinus* из коллекций ИБГ УФИЦ РАН и БГМУ.

2.2. Получение культур бородатых корней *Withania somnifera*

Семена *W. somnifera* скарифицировали перед посадкой с помощью наждачной бумаги, затем держали в 500 мкг/л растворе гибберелловой кислоты в течение суток (Khanna, 2013). Семена стерилизовали одну минуту в 70% этиловом спирте, затем 8 минут в 15% белизне. Трансформацию семядольных эксплантов проводили через 75 дней после посева семян. Для трансформации использовали *A. rhizogenes* A4 и 15834, которые предварительно были культивированы в жидкой среде LB с добавлением антибиотика рифампицина и канамицина. Затем агробактерии центрифугировали 10 минут при 4 тыс. об./мин. при 15-18 °C и осадок растворяли в жидкой среде MC с добавлением ацетосирингона. Суспензию *A. rhizogenes* культивировали на орбитальном шейкере 30 минут, после чего провели инокуляцию семядольных эксплантов.

Для получения эксплантов было использовано 10 семядолей проростков витании. Семядоли разделяли поперек на две части. Каждый эксплант по центральной жилке укалывали иглой инсулинового шприца,

обмакиваемой в инокулюм. Затем экспланты нижней стороной листа вверх погружали в чашку Петри с 10 мл жидкой среды МС с добавлением 4 мл инокулюма. Чашки перемешивали в течение 30 минут. Затем экспланты подсушивали на бумаге и двое суток сокультивировали с агробактериями на твердой среде МС, содержащей инозитол, глицин, тиамин и никотиновую кислоту. После чего экспланты пересаживали на среду, содержащую дополнительно 200 мг/л цефотаксима. После появления бородатых корней каждый корень пересаживали в отдельную чашку без антибиотика.

2.3. Приготовление питательных сред для выращивания бактерий

Культивировали микроорганизмы рода *Enterobacteriaceae* вида *E. coli* на среде Лурия-Бертани: бакто-триптон (1%), дрожжевой экстракт (0,5%), NaCl (1%), агар-агар (1,5%). Микроорганизмы рода *Staphylococcaceae* вида *Staphylococcus aureus* и рода *Candida* вида *Candida albicans* выращивали на среде Мюллера-Хинтона: мясной настой, гидролизат казеина, крахмал, агар-агар. Также в нашем эксперименте использовались микроорганизмы рода *Streptococcus* виды *Streptococcus mitis* и *Streptococcus sobrinus*, которые культивировались в анаэробных условиях на кровяном агаре: сыворотка крови, биопептон, триптический перевар говяжьего сердца, крахмал кукурузный, хлорид натрия, сульфат колистина, налидиксовая кислота, агар-агар.

Для этого взвешивали на аналитических весах все компоненты и смешивали с необходимым объемом предварительно нагретой до 70°C дистиллированной воды. Затем растворы питательных сред кипятили на водяной бане в течении 2-5 минут. Устанавливали, где это нужно было, pH с помощью потенциометра. Фильтровали жидкие и расплавленные плотные среды через ватно-марлевый фильтр. Затем разливали среды в емкости и стерилизовали в автоклаве.

2.4. Приготовление экстрактов растений

Плоды водяного ореха разделяли на ядро и оболочки: эндокарпий, мезокарпий и экзокарпий. Травы, купленные в аптеке, ядра и оболочки водяного ореха и другие растения были заморожены при -70° в течение 1 часа, затем они подвергались гомогенизации в ступке с пестиком. После этого пинцетом помещались в отдельные эппендорфы. Экстракцию метаболитов из этого порошка проводили отдельно в 70% этаноле, гексане (около 100%) и дистиллированной воде при комнатной температуре в течение 1.5 часов при постоянном помешивании на шейкере. После этого экстракты оставляли на 2 часа при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. Затем экстракты нагревали 1 час до 37°C и центрифугировали в центрифуге MPW-310 (Польша) при 12 000 об./мин., в течение 20 минут. В дальнейших экспериментах использовали надосадочную жидкость.

2.5. Определение антимикробной активности диско-диффузионным методом

Бумажные диски, предварительно вырезанные из бумаги Watman, пропитывались определенным количеством экстрактов растений в течение 30 минут. В качестве положительного контроля использовали диски с антибиотиком цефотаксимом. В стерильные чашки Петри диаметром 10 см наливали по 20 мл расплавленной агаризованной питательной среды. Для получения равномерного бактериального газона на поверхность агара в чашку наливали 200 мкл испытуемой культуры микроорганизмов. Жидкость равномерно распределяли стерильным стеклянным шпателем и подсушивали агар в ламинаре в течение 5 минут. Затем на поверхность инокулированного агара на расстоянии 2 см от края чашки и на равном расстоянии друг от друга помещали пинцетом по одному бумажные диски, пропитанные экстрактами растений. На дне чашки подписывали номер экстракта, которым пропитан диск. Чашки помещали в термостат 37°C на сутки.

Результаты учитывали определением диаметра зоны задержки роста микроба вокруг дисков, пользуясь миллиметровой линейкой. Отсутствие задержки роста микробов указывает на резистентность исследуемого микроба к данному экстракту. Зоны, диаметр которых не превышает 15 мм, свидетельствуют о слабой чувствительности к антибиотику. Зоны от 15 до 25 мм встречаются у чувствительных микробов. Высокочувствительные микробы характеризуются зонами с диаметром более 25 мм.

2.6. Статистическая обработка полученных результатов

Для оценки морфометрических различий между выборками контрольной и опытной групп растений, а также разницы в уровнях экспрессии между разными частями растения или в ответ на внешнее воздействие, использовали U-критерий Манна – Уитни:

$$U = n_1 * n_2 + n_x * (n_x + 1) * 2 - T_x, \text{ где}$$

n_1 – количество элементов в первой выборке;

n_2 – количество элементов во второй выборке;

T_x – большая из двух ранговых сумм;

n_x – количество элементов в группе с большей ранговой суммой.

Полученное эмпирическое значение сравнивали с критическим значением U-критерия по таблице критических значений U-критерия Манна – Уитни. Если полученное значение U меньше табличного или равно ему, то признается наличие существенного различия между уровнем признака в рассматриваемых выборках. Достоверность различий тем выше, чем меньше значение U .

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Растения используются в качестве получения лекарственных препаратов, для лечения и профилактики различных заболеваний. На

сегодняшний день известно, что более одной трети препаратов, применяемых для лечения, изготавливается из растений. Исследование антимикробных свойств генетически трансформированных корней и растений, растущих в условиях *in vivo* будет полезным в науке и практике, а свойства этих корней и растений в целом помогут сделать процесс более выгодным в промышленном плане.

3.1. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Escherichia coli* XL1 Blue.

Заболевания, которые вызывает кишечная палочка, называют эшерихиозами. Существует 4 группы *E. coli*, которые способны вызывать эшерихиозы, это энтеротоксигенные (ЭТКП), энтероинвазивные (ЭИКП), энтеропатогенные (ЭПКП) и энтерогеморрагические (ЭГКП) кишечные палочки. При различных обстоятельствах кишечная палочка является причиной патологических состояний: сепсис, холецистит, колит, цистит, энтерит.



Рисунок – 1 Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB. А – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 1 - можжевельник; 2 - зверобой; 3 - толокнянка; 4 - подорожник; спиртовые экстракты: 5 - зверобой; 6 - толокнянка.



Рис.2. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB. Б – Цифрами указаны водные экстракты: 7 - можжевельник; 8 - зверобой; 9 - толокнянка; 10 - подорожник; спиртовые экстракты: 11 - подорожник; 12 - можжевельник.



Рис.3. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB. В – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 13 – мезокарпий *T. sibirica*; 14 – эндокарпий *T. sibirica*; 15 – ядра *T. sibirica*; 16 – рога *T. sibirica*; 17 - лук; 18 – луковичи чеснока.

Под буквой К – контроль, раствор антибиотика цефотаксима. Как и ожидалось, он показал высокую антибактериальную активность. Диаметр зоны подавления данного антибиотика составляет 30 мм. Можно сказать, что используемая нами диско-диффузионная система может быть применима для оценки антибактериальной активности растительных экстрактов. Гексановые экстракты можжевельника, зверобоя, толокнянки, подорожника (рис. 1) и ядер плодов водяного ореха (рис. 3) не показали антибактериальной активности. Исходя из этого можно сделать вывод, что гексановая экстракция не подходит для данных растений, т.к. они не содержат эфирных масел или других антимикробных соединений, которые выделяются гексаном. В то же время гексановые экстракты мезокарпия, эндокарпия, рогов водяного ореха, лука и чеснока (рис. 3) оказывали существенное негативное воздействие на рост *E. coli* XL1 Blue. Водные экстракты можжевельника, зверобоя, толокнянки и подорожника (рис. 2) вообще не показали негативного воздействия против кишечной палочки. А спиртовые экстракты звербоя и толокнянки (рис. 1) показали слабую активность. Спиртовые экстракты подорожника и можжевельника (рис. 2) не обладают антибактериальной активностью вовсе.

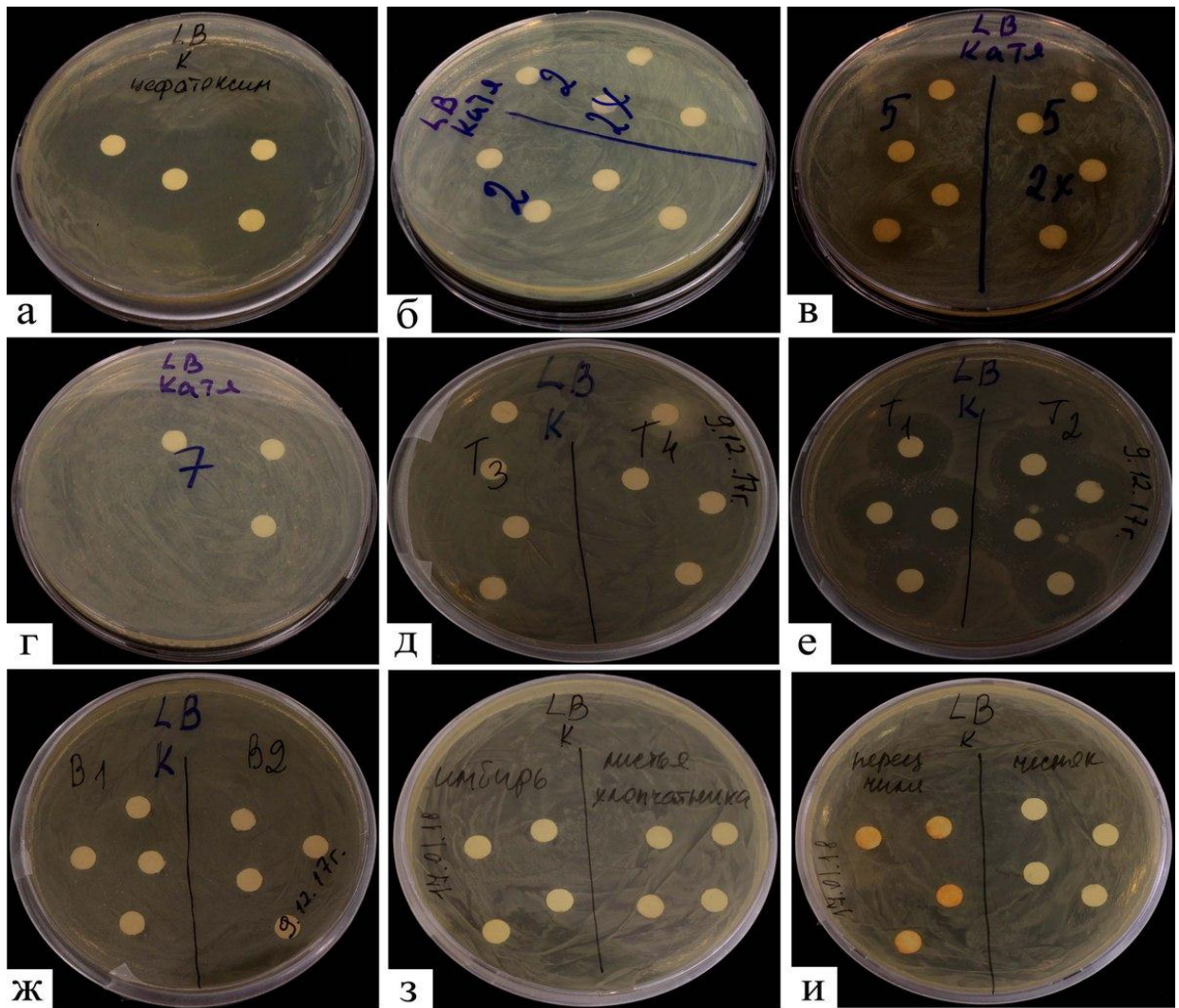


Рис.4. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB.

а – цефотаксим, б – ядра *T. sibirica*, в – кожура *T. sibirica*, г – этанол 40%, д, е – бородачатые корни табака, ж – бородачатые корни витании, з – имбирь (слева) и листья хлопчатника (справа), и – перец чили (слева) и чеснок (справа).

Наиболее высокая антибактериальная активность была выявлена у экстракта эндокарпиев плодов водяного ореха (рис. 2в).

3.2. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Escherichia coli* БГМУ

Под буквой К – контроль, раствор антибиотика цефотаксима. Как и ожидалось, он показал высокую антибактериальную активность. Диаметр

зоны подавления данного антибиотика составляет 30 мм. Можно сказать, что используемая нами диско-диффузионная система может быть применима для оценки антибактериальной активности растительных экстрактов. Гексановые экстракты можжевельника, зверобоя, толокнянки, подорожника (рис. 5) и ядер плодов водяного ореха (рис. 7) не показали антибактериальной активности. Исходя из этого можно сделать вывод, что гексановая экстракция не подходит для данных растений, т.к. они не содержат эфирных масел, которые выделяются гексаном. В то же время гексановые экстракты мезокарпия, эндокарпия, рогов, лука и чеснока (рис. 7) оказывали существенное негативное воздействие на рост *E.coli*. Водные экстракты можжевельника, толокнянки и подорожника вообще не показали негативного воздействия против кишечной палочки, в отличие от водного экстракта зверобоя (рис. 6), где наблюдается небольшая подавляющая кишечную палочку активность. А спиртовые экстракты зверобоя и толокнянки (рис. 5) показали слабую активность. Спиртовые экстракты подорожника и можжевельника (рис. 6) не обладают антибактериальной активностью вовсе. Водный (рис. 8) и спиртовой (рис. 9) экстракты мезокарпия водяного ореха обладают достаточно большой подавляющей активностью. Чего нельзя сказать о водном (рис. 8) и спиртовом (рис. 9) экстракте эндокарпия водяного ореха, так как под этими номерами наблюдается низкая подавляющая активность в отношении *E.coli*. Водные экстракты ядер и рогов (рис. 8) водяного ореха и спиртовые экстракты ядер и рогов (рис. 9) *T.natans* не показали антибактериальной активности, что говорит о высокой резистентности кишечной палочки.

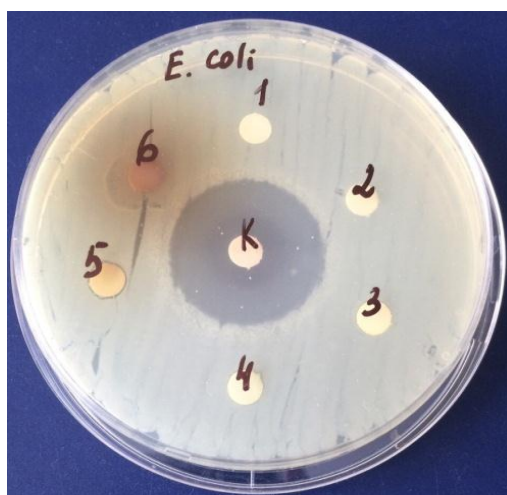


Рис. 5. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB. А – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 1 - можжевельник; 2 - зверобой; 3 - толокнянка; 4 - подорожник; спиртовые экстракты: 5 - зверобой; 6 - толокнянка.

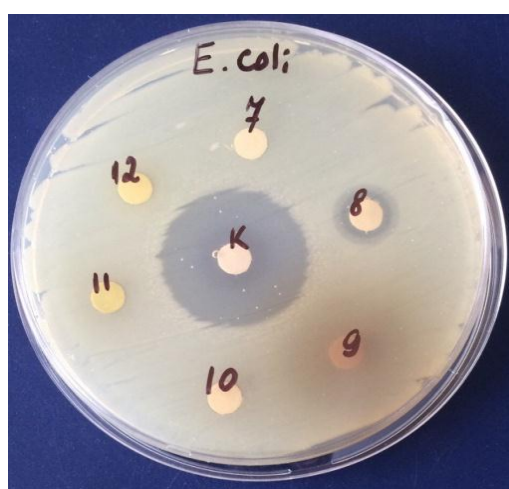


Рис. 6. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB. Б – Цифрами указаны водные экстракты: 7 - можжевельник; 8 - зверобой; 9 - толокнянка; 10 - подорожник; спиртовые экстракты: 11 - подорожник; 12 - можжевельник.

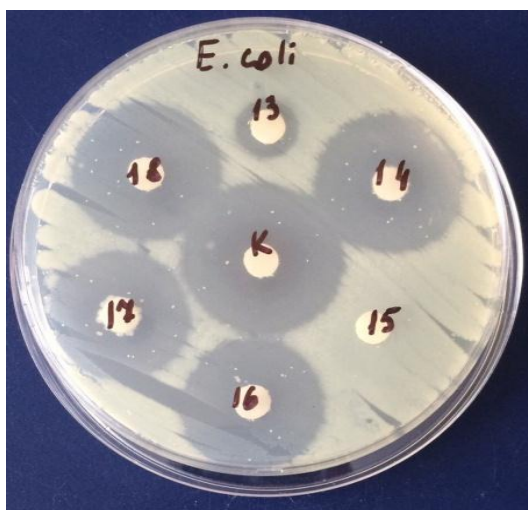


Рис. 7. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB.V – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 13 – мезокарпий *T. sibirica*; 14 – эндокарпий *T. sibirica*; 15 – ядра *T. sibirica*; 16 – рога *T. sibirica*; 17 – лук; 18 – луковичы чеснока.

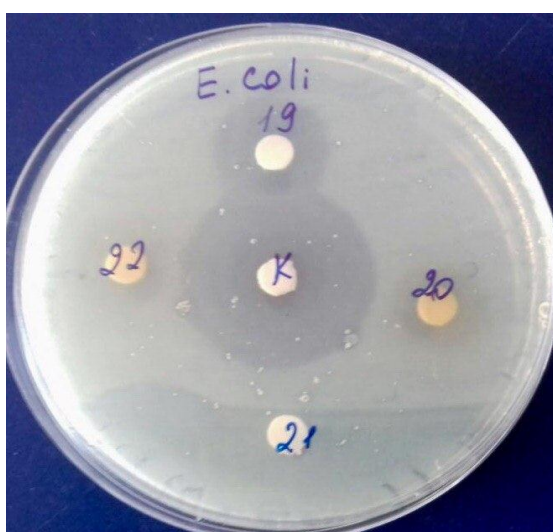


Рис. 8. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB. Г – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* водные: 19 – мезокарпий; 20 – эндокарпий; 21 – ядра; 22 – рога.

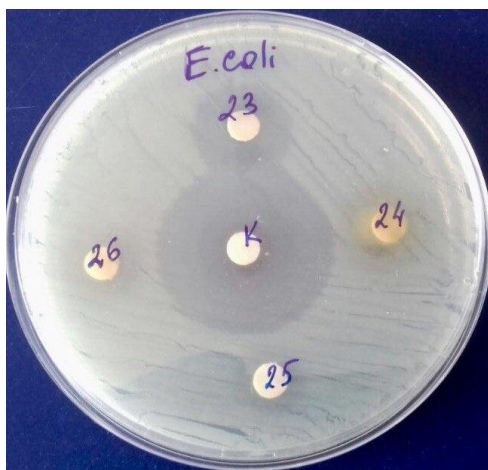


Рис. 9. Чашки Петри с инокулированной *E. coli* на среде LB. Д – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* спиртовые: 23 – мезокарпий; 24 – эндокарпий; 25 – ядра; 26 – рога.

3.3. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Candida albicans*

У большинства людей *C. albicans* проживает как пожизненный, безобидный комменсал. Однако при определенных обстоятельствах *C. albicans* может вызывать инфекции, которые варьируются от поверхностных инфекций кожи до опасных для жизни системных инфекций. Было выявлено несколько факторов и видов деятельности, которые способствуют патогенному развитию *C. albicans* (François, 2013).

Под буквой К – контроль, раствор антибиотика цефотаксима. Как и ожидалось, он показал высокую антибактериальную активность. Диаметр зоны подавления данного антибиотика составляет 30 мм. Можно сказать, что используемая нами диско-диффузионная система может быть применима для оценки антибактериальной активности растительных экстрактов. Гексановые экстракты можжевельника, зверобоя, толокнянки, подорожника (рис. 10), мезокарпия, эндокарпия, ядер и рогов водяного ореха, лука (рис. 12) не показали антибактериальной активности. Исходя из этого можно сделать вывод, что гексановая экстракция не подходит для

данных растений, т.к. они не содержат эфирных масел, которые выделяются гексаном. В то же время гексановые экстракты чеснока (рис. 12) оказывали существенное негативное воздействие на рост *C.albicans*. Водные экстракты можжевельника, зверобоя вообще не показали негативного воздействия против данного микроорганизма, в отличие от водного экстракта толокнянки и подорожника (рис. 11), где наблюдается небольшая подавляющая активность. А спиртовые экстракты зверобоя и толокнянки (рис. 10) и подорожника показали слабую активность. Спиртовой экстракт можжевельника (рис. 11) не обладает антибактериальной активностью вовсе. Водный (рис. 13) и спиртовой (рис. 14) экстракт эндокарпия водяного ореха и водный (рис. 13) и спиртовой (рис. 14) экстракты рогов водяного ореха обладают небольшой большой подавляющей активностью. Водные экстракты мезокарпия и ядер (рис. 13) водяного ореха и спиртовые экстракты мезокарпия и ядер (рис. 14) *T.natans* не показали антибактериальной активности, что говорит о высокой резистентности *C.albicans*.

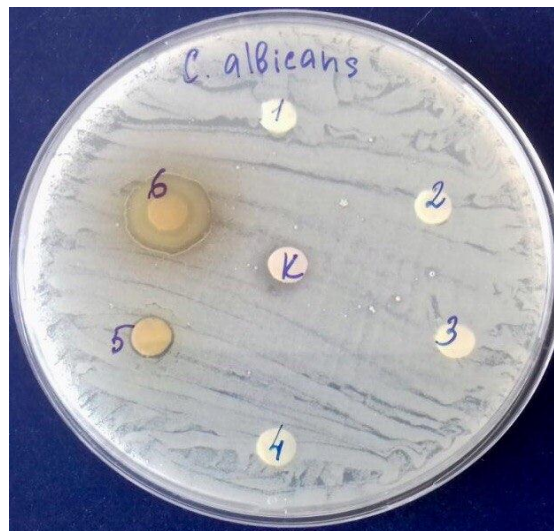


Рис.10. Чашки Петри с инокулированной *C. albicans* на среде Мюллера-Хинтона. А – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 1 - можжевельник; 2 - зверобой; 3 - толокнянка; 4 - подорожник; спиртовые экстракты: 5 - зверобой; 6 - толокнянка.



Рис.11. Чашки Петри с инокулированной *C. albicans* на среде Мюллера-Хинтона.Б – Цифрами указаны водные экстракты: 7 - можжевельник; 8 - зверобой; 9 - толокнянка; 10 - подорожник; спиртовые экстракты: 11 - подорожник; 12 - можжевельник.



Рис.12. Чашки Петри с инокулированной *C. albicans* на среде Мюллера-Хинтона. В – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 13 – мезокарпий *T. sibirica*; 14 – эндокарпий *T. sibirica*; 15 – ядра *T. sibirica*; 16 – рога *T. sibirica*; 17 - лук; 18 – луковицы чеснока.



Рис.13. Чашки Петри с инокулированной *C. albicans* на среде Мюллера-Хинтона. Г – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* водные: 19 – мезокарпий; 20 – эндокарпий; 21 – ядра; 22 – рога.



Рис.14. Чашки Петри с инокулированной *C. albicans* на среде Мюллера-Хинтона. Д – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* спиртовые: 23 – мезокарпий; 24 – эндокарпий; 25 – ядра; 26 – рога.

3.4. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Staphylococcus aureus*

Золотистый стафилококк вызывает широкий спектр клинических инфекций. Он является ведущей причиной бактериемии и инфекционного эндокардита, а также остеоартикулярных, кожных и мягких тканей, плевропульмонарных инфекций (Steven, 2015). Около 30% людей являются носителями *S.aureus* (Wertheim, 2005).

Под буквой К – контроль, раствор антибиотика цефотаксима. Как и ожидалось, он показал высокую антибактериальную активность. Диаметр зоны подавления данного антибиотика составляет 30 мм. Можно сказать, что используемая нами диско-диффузионная система может быть применима для оценки антибактериальной активности растительных экстрактов. Гексановые экстракты можжевельника, зверобоя, толокнянки, подорожника (рис. 15), мезокарпия, эндокарпия, ядер и рогов (рис. 17) водяного ореха не показали антибактериальной активности. Исходя из этого можно сделать вывод, что гексановая экстракция не подходит для данных растений, т.к. они не содержат эфирных масел, которые выделяются гексаном. В то же время гексановые экстракты лука и чеснока (рис. 17) оказывали существенное негативное воздействие на рост *S.aureus*. Водные экстракты можжевельника, зверобоя и подорожника вообще не показали негативного воздействия против данного микроорганизма, в отличие от водного экстракта толокнянки (рис. 16) где наблюдается небольшая подавляющая активность. А спиртовые экстракты зверобоя, толокнянки (рис. 15) и можжевельника (рис. 16) показали слабую активность. Спиртовой экстракт подорожника (рис. 16) не обладает антибактериальной активностью вовсе. Водный (рис. 18) и спиртовой (рис. 19) экстракт эндокарпия водяного ореха и водный (рис.18) и спиртовой (рис. 19) экстракты рогов водяного ореха обладают небольшой большой подавляющей активностью. Водные экстракты мезокарпия и ядер (рис. 18) водяного ореха и спиртовые

экстракты мезокарпия и ядер (рис. 19) *T.natans* не показали антибактериальной активности, что говорит о высокой резистентности *S.aureus*.



Рис.15. Чашки Петри с инокулированной *S. aureus* на среде Мюллера-Хинтона. А – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 1 - можжевельник; 2 - зверобой; 3 - толокнянка; 4 - подорожник; спиртовые экстракты: 5 - зверобой; 6 - толокнянка.



Рис.16. Чашки Петри с инокулированной *S. aureus* на среде Мюллера-Хинтона. Б – Цифрами указаны водные экстракты: 7 - можжевельник; 8 - зверобой; 9 - толокнянка; 10 - подорожник; спиртовые экстракты: 11 - подорожник; 12 – можжевельник



Рис.17. Чашки Петри с инокулированной *S. aureus* на среде Мюллера-Хинтона. В – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 13 – мезокарпий *T. sibirica*; 14 – эндокарпий *T. sibirica*; 15 – ядра *T. sibirica*; 16 – рога *T. sibirica*; 17 - лук; 18 – луковички чеснока.

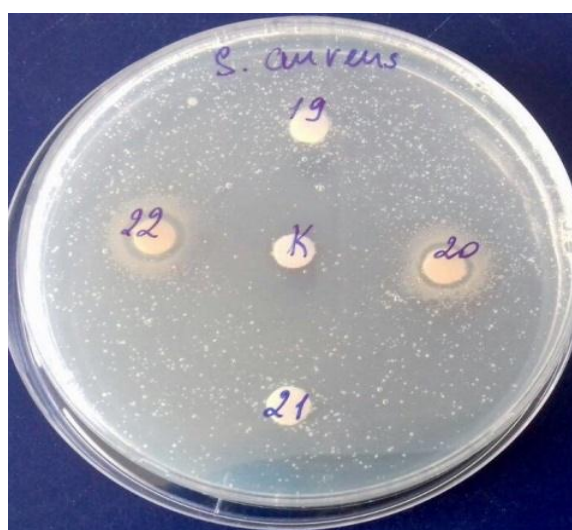


Рис.18. Чашки Петри с инокулированной *S. aureus* на среде Мюллера-Хинтона. Г – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* водные: 19 – мезокарпий; 20 – эндокарпий; 21 – ядра; 22 – рога.



Рис.19. Чашки Петри с инокулированной *S. aureus* на среде Мюллера-Хинтона. Д – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* спиртовые: 23 – мезокарпий; 24 – эндокарпий; 25 – ядра; 26 – рога.

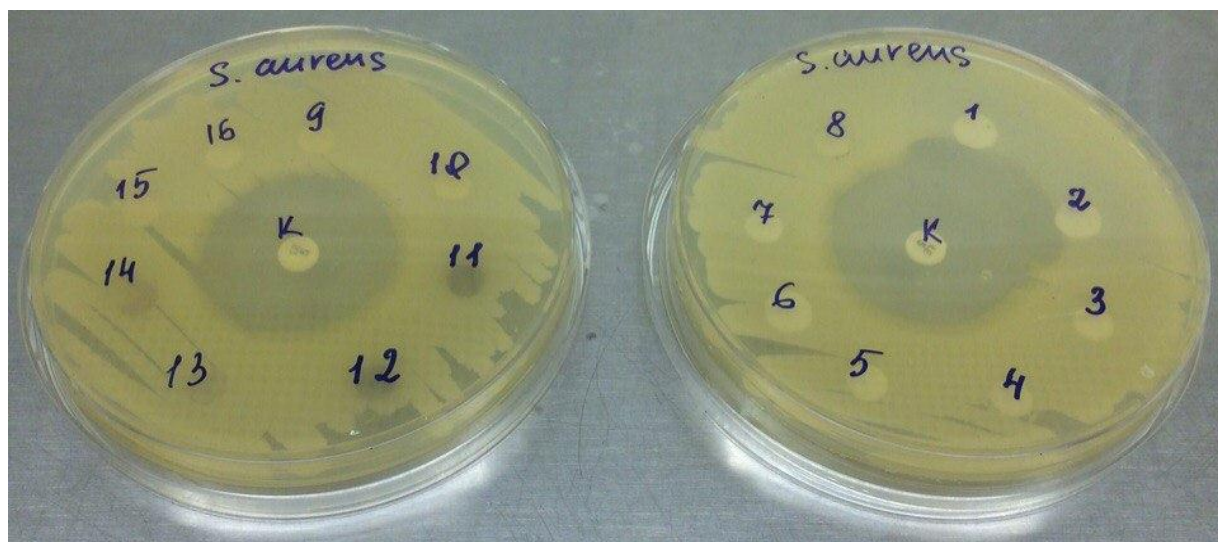


Рис. 20. Чашки Петри с инокулированной *S. aureus* на среде Мюллера-Хинтона. Цифрами указаны спиртовые экстракты в концентрации 40% этанола: 1 – чеснок, 3 – алоэ вера кожура, 5 – алоэ древовидное, 7 – листья табака, 9 – лук репчатый, 11 – клюква крупноплодная, 13 – каланхоэ, 15 – алоэ вера. Спиртовые экстракты в

концентрации 70% этанола: 2 – чеснок, 4 – алоэ вера кожура, 6 – алоэ древовидное, 8 – листья табака, 10 – лук репчатый, 12 – клюква крупноплодная, 14 – каланхоэ, 16 – алоэ вера.

Антибактериальной активности не выявлено ни у одного экстракта.

3.5. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Streptococcus mitis*

S. mitis является членом группы *viridians streptococci* (VGS) (Bichitrananda S, 2013). Это генетически гетерогенная группа бактерий, преобладающая в ротоглотке человека (Human Microbiome Project Consortium). VGS вызывают широкий спектр инфекций, включая бактериемию, инфекционный эндокардит и орбитальный целлюлит (Dix D, 2012).



Рис.21. Чашки Петри с инокулированной *S.mitis* на кровяном агаре. А, Б – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 1 - можжевельник; 2 - зверобой; 3 - толокнянка; 4 - подорожник; спиртовые экстракты: 5 - зверобой; 6 - толокнянка.

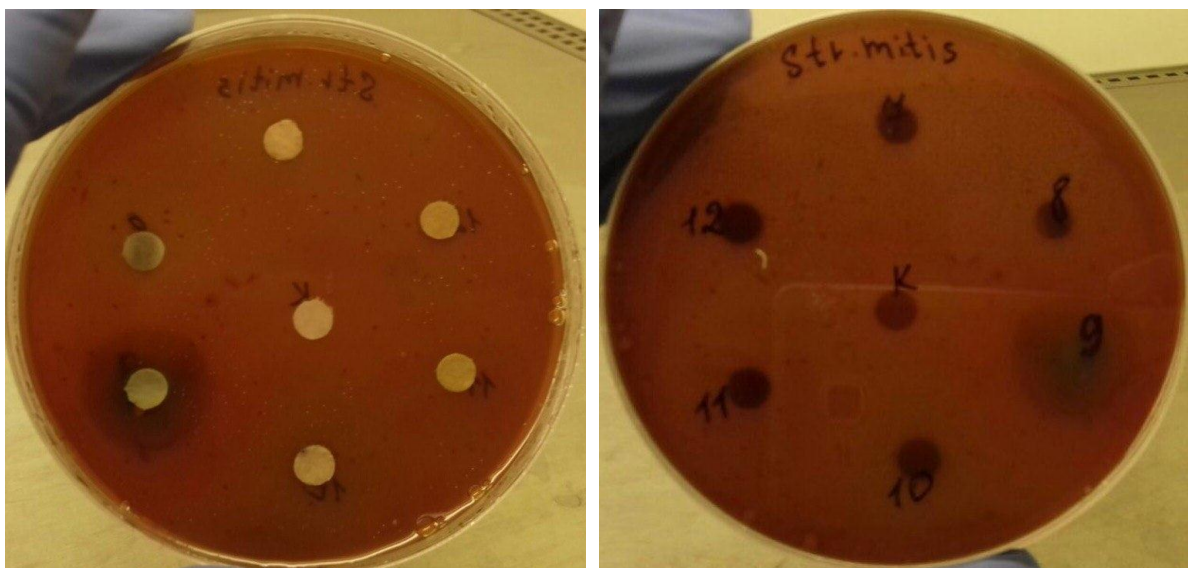


Рис.22. Чашки Петри с инокулированной *S.mitis* на кровяном агаре. В, Г – Цифрами указаны водные экстракты: 7 - можжевельник; 8 - зверобой; 9 - толокнянка; 10 - подорожник; спиртовые экстракты: 11 - подорожник; 12 - можжевельник.

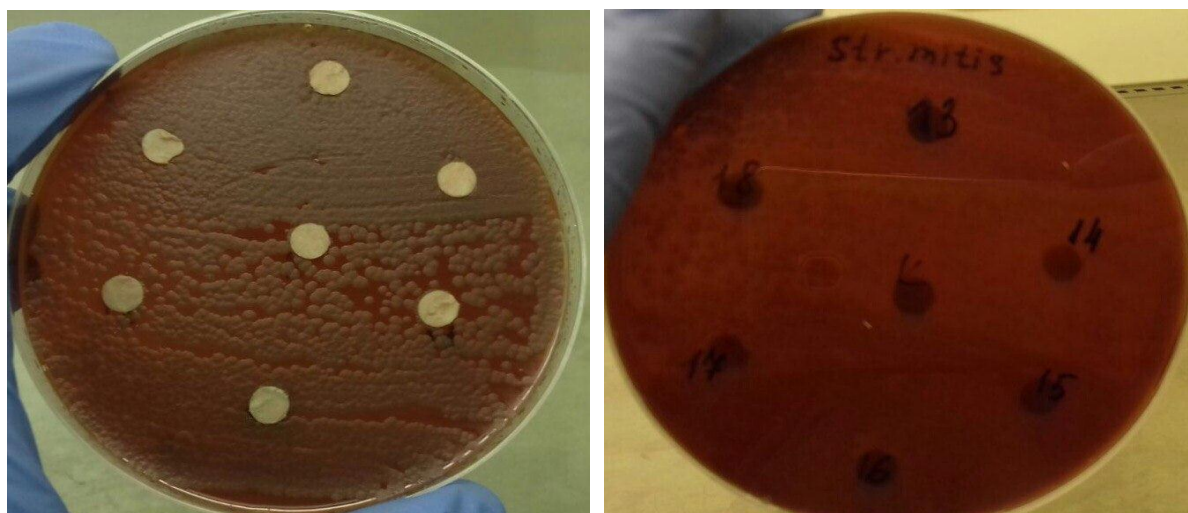


Рис.23. Чашки Петри с инокулированной *S.mitis* на кровяном агаре. Д, Е – Цифрами указаны следующие гексановые экстракты: 13 – мезокарпий *T. sibirica*; 14 – эндокарпий *T. sibirica*; 15 – ядра *T. sibirica*; 16 – рога *T. sibirica*; 17 - лук; 18 – луковицы чеснока.

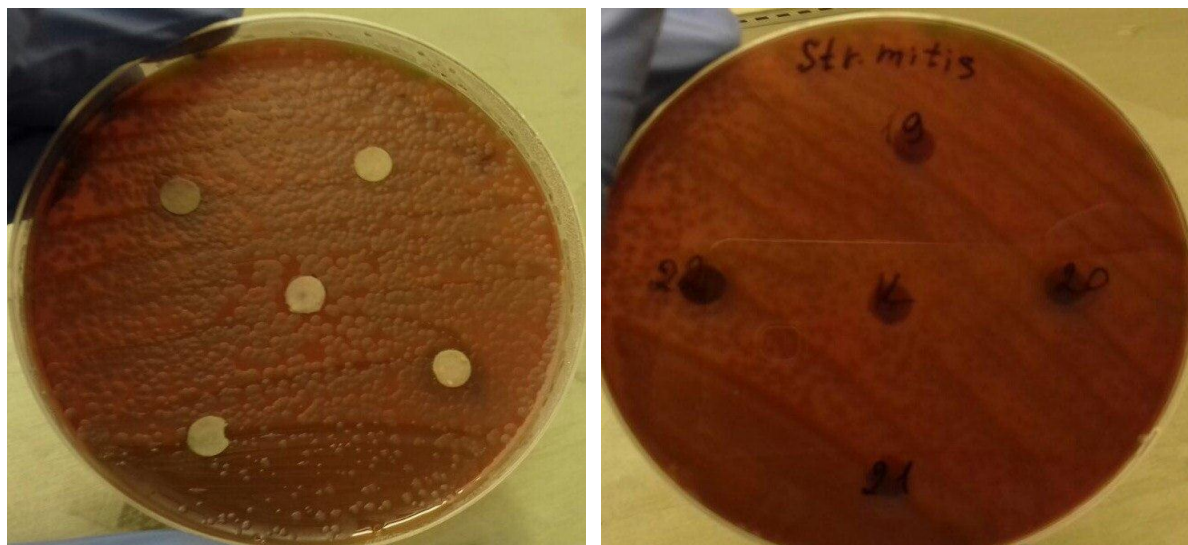


Рис.24. Чашки Петри с инокулированной *S.mitis* на кровяном агаре. Ж, З – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* водные: 19 – мезокарпий; 20 – эндокарпий; 21 – ядра; 22 – рога.



Рис.25. Чашки Петри с инокулированной *S.mitis* на кровяном агаре. И – Цифрами указаны экстракты *T. sibirica* спиртовые: 23 – мезокарпий; 24 – эндокарпий; 25 – ядра; 26 – рога.

Под буквой К – контроль, раствор антибиотика цефотаксима. Как и ожидалось, он показал высокую антибактериальную активность. Диаметр зоны подавления данного антибиотика составляет 30 мм. Можно сказать, что используемая нами диско-диффузионная система может быть применима для оценки антибактериальной активности растительных экстрактов. Гексановые экстракты зверобоя, подорожника (рис. 21), эндокарпия, ядер и рогов водяного ореха, лука и чеснока (рис. 23) не показали антибактериальной активности. Исходя из этого можно сделать вывод, что гексановая экстракция не подходит для данных растений, т.к. они не содержат эфирных масел, которые выделяются гексаном. В то же время гексановые экстракты можжевельника, толокнянки (рис. 21), мезокарпия (рис. 23) оказывали существенное негативное воздействие на рост *S.mitis*. Водные экстракты подорожника (рис. 22) вообще не показали негативного воздействия против данного микроорганизма, в отличие от водных экстрактов можжевельника, зверобоя и толокнянки (рис. 22) где наблюдается большая подавляющая активность. А спиртовые экстракты толокнянки (рис. 21), подорожника и можжевельника (рис. 22) показали большую активность. Спиртовой экстракт зверобоя (рис. 21), не обладает антибактериальной активностью вовсе. Водные экстракты мезокарпия, эндокарпия, ядер и рогов (рис. 24) водяного ореха и спиртовые экстракты мезокарпия, эндокарпия, ядер и рогов (рис. 25) *T.natans* не показали антибактериальной активности, что говорит о высокой резистентности *S.mitis*.

3.6. Исследование антимикробной активности растительных экстрактов на *Streptococcus sobrinus*

Стрептококки группы А – это грамположительные патогенные микроорганизмы, которые являются возбудителями фарингита, импетиго, ревматической лихорадки и острого гломерулонефрита. В последнее десятилетие возродились инвазивные стрептококковые заболевания и

ревматическая лихорадка с преобладанием серотипа M1. Также были определены новые гены вирулентности за счет экспрессии гена *emm* (М белка) (Madeleine W, 2000; Samuel A, 2014).

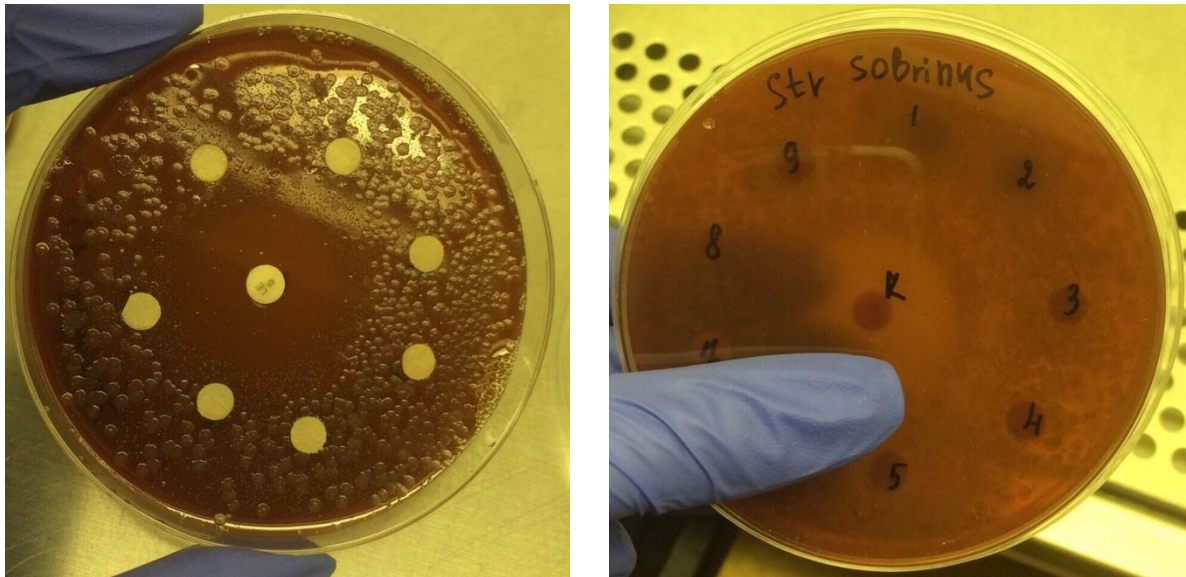


Рис. 26. Чашки Петри с инокулированной *S.sobrinus* на кровяном агаре. А, В – Цифрами указаны спиртовые экстракты в концентрации 40% этанола: 1 – чеснок, 3 – алоэ вера кожура, 5 – алоэ древовидное, 7 – листья табака, 9 – лук репчатый. Спиртовые экстракты в концентрации 70% этанола: 2 – чеснок, 4 – алоэ вера кожура, 6 – алоэ древовидное, 8 – листья табака.

Антибактериальной активности не выявлено ни у одного из экстрактов.

3.7. Антибактериальная активность гексановых экстрактов

Наибольшая антибактериальная активность была зафиксирована для гексановых экстрактов рогов и эндокарпиев плодов водяного ореха (табл. 1). Причем антимикробная активность этих экстрактов была вполне сравнимой с антибиотиком цефотаксимом. Необходимо отметить, что при гексановой экстракции антимикробные метаболиты выделялись также и из мезокарпиев водяного ореха. Гексановый экстракт ядер плодов водяного ореха антимикробной активности не показал. Очень высокий уровень антимикробной активности также показали гексановые экстракты луковиц чеснока и лука (табл. 1). В то же время гексановые экстракты плодов

можжевельника, листьев толокнянки и подорожника, цветков зверобоя не показали столь высокого уровня активности (табл. 1). Лишь *S. mitis* оказался чувствительным к гексановым экстрактам плодов можжевельника и листьев толокнянки.

Таблица 1. Антимикробная активность исследуемых гексановых экстрактов

№ п/п	Название растительного сырья	Диаметры зон задержки роста микроорганизмов, мм				
		<i>E. coli</i> XL1 Blue ИБГ	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>mitis</i>	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>E. coli</i> КБ №8
1.	Эндокарпий водяного ореха	30 ±0,5	рост	рост	рост	20 ±0,5
2.	Мезокарпий водяного ореха	15 ±0,5	рост	13 ±0,5	рост	12 ±0,5
3.	Ядра водяного ореха	рост	рост	рост	рост	рост
4.	Рога водяного ореха	28 ±0,5	рост	рост	рост	17 ±0,5
5.	Лук репчатый	20 ±0,5	21 ±0,5	рост	рост	17 ±0,5
6.	Чеснок	27 ±0,5	22 ±0,5	рост	17 ±0,5	20 ±0,5
7.	Можжевельника плоды	Рост	рост	17 ±0,5	рост	рост
8.	Зверобой	Рост	рост	рост	рост	рост
9.	Толокнянка	Рост	рост	14 ±0,5	рост	рост
10.	Подорожник	Рост	рост	рост	рост	рост

3.8. Антибактериальная активность водных экстрактов

Из водных экстрактов разных частей плодов водяного ореха наибольшая антимикробная активность была выявлена в эндокарпиях и рогах (табл. 2). К водному экстракту эндокарпиев плодов водяного ореха оказались чувствительными *E. coli*, *S. aureus* и *C. albicans*. *S. mitis* такой чувствительности не проявил. Водные экстракты луковиц чеснока и лука антимикробной активности не проявили (табл. 2). Экстракт плодов можжевельника проявил активность лишь на *S. mitis*, тогда как экстракт зверобоя оказался эффективным и в случае с *E. coli*. Экстракт толокнянки оказался активным против всех исследуемых бактерий, кроме кишечной палочки (табл. 2). Водный экстракт подорожника проявил активность лишь по отношению к *C. albicans*. В целом наибольшая антимикробная активность была характерна для водных экстрактов толокнянки и эндокарпиев водяного ореха, хотя их активность и была меньше почти в 2 раза, чем при использовании антибиотика цефотаксима. Диаметр зоны задержки роста при использовании цефотаксима составил в среднем 30 мм

Таблица 2. Антимикробная активность исследуемых водных экстрактов

№ п/п	Название растительного сырья	Диаметры зон задержки роста микроорганизмов, мм				
		<i>E. coli</i> XL1 Blue ИБГ	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>mitis</i>	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>E. coli</i>
1.	Эндокарпий водяного ореха	15 ±0,5	16±0,5	рост	14 ±0,5	рост
2.	Мезокарпий водяного ореха	Рост	рост	рост	рост	21 ±0,5
3.	Ядра водяного ореха	Рост	рост	рост	рост	рост
4.	Рога водяного ореха	17 ±0,5	16±0,5	рост	16 ±0,5	рост

5.	Лук репчатый	Рост	рост	рост	рост	рост
6.	Чеснок	Рост	рост	рост	рост	рост
7.	Можжевельника плоды	Рост	рост	12 ±0,5	рост	рост
8.	Зверобой	Рост	рост	14 ±0,5	рост	12 ±0,5
9.	Толокнянка	Рост	14 ±0,5	20 ±0,5	12 ±0,5	рост
10.	Подорожник	Рост	рост	рост	11 ±0,5	рост

3.9. Антибактериальная активность спиртовых экстрактов

Спиртовой экстракт рогов и эндокарпиев плодов водяного ореха проявил антимикробную активность ко всем анализируемым микроорганизмам, кроме *S. mitis* (табл. 3). Экстракт мезокарпиев и ядер плодов водяного ореха такой антимикробной активности не проявлял. Спиртовые экстракты луковиц чеснока и лука, также как и водные экстракты антимикробной активностью не отличились (табл. 3). Экстракт плодов можжевельника был активен по отношению к *S. aureus* и *S. mitis*, а экстракт зверобоя по отношению ко всем анализируемым микроорганизмам, кроме *S. mitis*. Наиболее интересные результаты показал спиртовой экстракт толокнянки, чувствительными к нему оказались все анализируемые микроорганизмы (табл. 3). Спиртовой экстракт подорожника был активен по отношению к *S. mitis* и *C. albicans*. Наибольшая степень антимикробной активности была зафиксирована для спиртовых экстрактов рогов и эндокарпиев водяного ореха, а также листьев толокнянки. Однако следует сказать, что активность цефотаксима была примерно в 2 раза выше, чем у этих растительных экстрактов.

Таблица 3. Антимикробная активность исследуемых спиртовых экстрактов

№ п/п	Название растительного сырья	Диаметры зон задержки роста микроорганизмов, мм				
		<i>E. coli</i> XL1 Blue ИБГ	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Streptococcus</i> <i>mitis</i>	<i>Candida</i> <i>albicans</i>	<i>E. coli</i> КБ №8
1.	Эндокарпий водяного ореха	15 ±0,5	12 ±0,5	рост	14 ±0,5	12 ±0,5
2.	Мезокарпий водяного ореха	Рост	рост	рост	рост	21 ±0,5
3.	Ядра водяного ореха	Рост	рост	рост	рост	рост
4.	Рога водяного ореха	16 ±0,5	12 ±0,5	рост	16 ±0,5	рост
5.	Лук репчатый	Рост	рост	рост	рост	рост
6.	Чеснок	Рост	рост	рост		рост
7.	Можжевельника плоды	Рост	12 ±0,5	12 ±0,5	рост	рост
8.	Зверобой	10 ±0,5	10 ±0,5	рост	10 ±0,5	11 ±0,5
9.	Толокнянка	14 ±0,5	15 ±0,5	17 ±0,5	13 ±0,5	13 ±0,5
10.	Подорожник	Рост	рост	15 ±0,5	10 ±0,5	рост

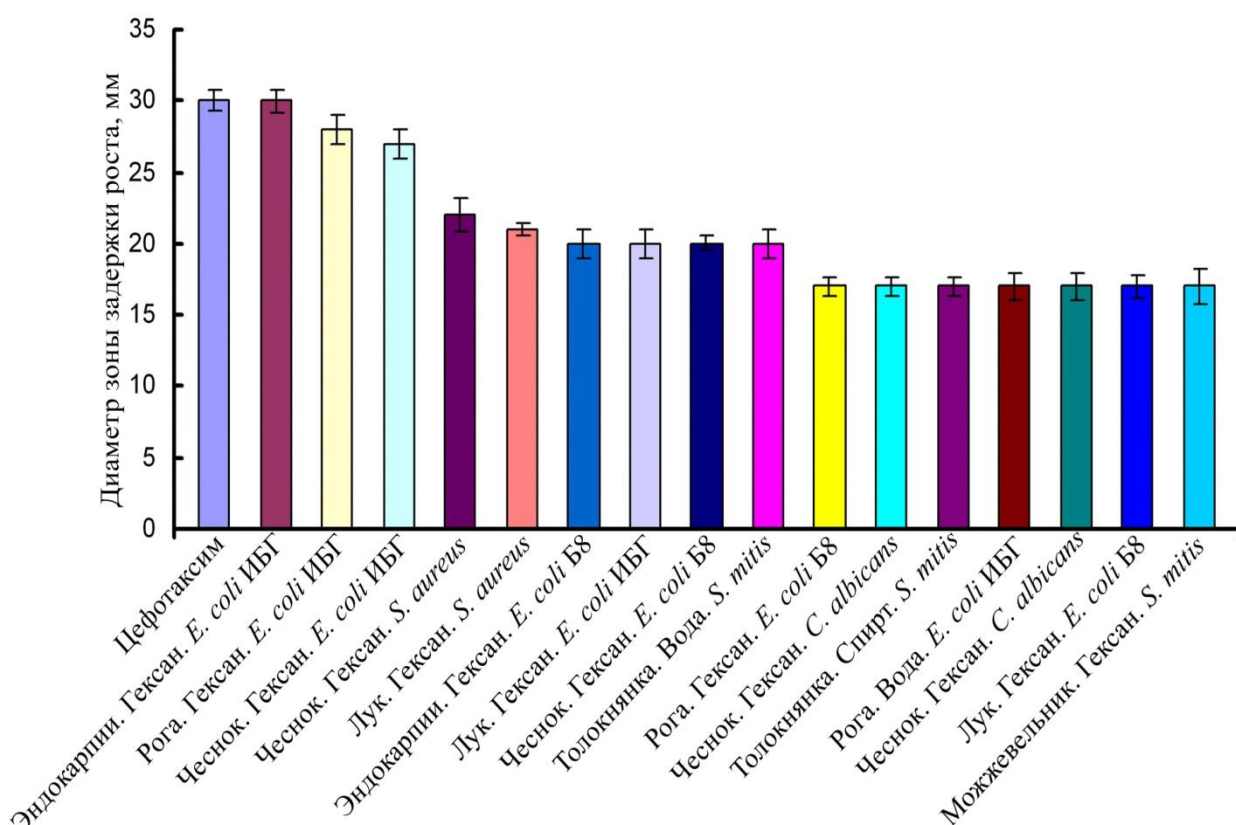


Рис. 27. Антимикробная активность исследуемых растительных экстрактов.

Как видно из рис. 27 наиболее высокий уровень антимикробной активности на уровне антибиотика цефотаксима зафиксирован для гексановых экстрактов эндокарпиев плодов водяного ореха и луковиц чеснока и лука

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Растения используются в качестве лекарственных препаратов, для лечения и профилактики различных заболеваний. По данным Государственного реестра лекарственных средств МЗ РФ на сегодняшний день более одной трети препаратов, применяемых для лечения, изготавливается из растений (Государственный реестр лекарственных средств, 2001; Муравьёва, 1991; Гусев, 2010). А в фитотерапии в целом используется приблизительно две тысячи видов растений (Махлаюк, 1992). Но человечество использует далеко не все биоразнообразие лекарственных растений, в связи с недостатком данных о ресурсах, химическом составе и малой изученностью свойств фитопрепаратов (Гусев, 2008). На данный момент одной из актуальных проблем в биологической и медицинской науке является поиск новых источников лекарственного растительного сырья, что позволило бы расширить ассортимент лекарственных средств изготовленных из растений.

В различных областях науки растения используют для получения больших количеств вторичных метаболитов. Растительные клетки обладают всеми качествами для продукции биологически активных сложных белков. Доля биологически активной формы в рекомбинантном белке, для синтеза которого были использованы растительные клетки, очень высока.

Исследование антимикробных свойств генетически трансформированных корней и растений, растущих в условиях *in vivo* будет полезным в науке и практике, а свойства этих корней и растений в целом помогут сделать процесс более выгодным в промышленном плане.

В ходе наших исследований удалось получить данные о высоком уровне антимикробной активности экстрактов эндокарпиев плодов водяного ореха. Дальнейшие исследования должны быть направлены на определение индивидуальных вторичных метаболитов водяного ореха, обладающих такими свойствами. Нельзя исключать того, что данные

соединения могут быть использованы для создания новых антибиотиков широкого круга действия.

ВЫВОДЫ

1. Спиртовые экстракты генетически трансформированных (бородатых) корней табака и витании не обладают антимикробной активностью.

2. Спиртовые, водные и гексановые экстракты эндокарпиев, мезокарпиев и рогов плодов водяного ореха *Trapa* L. обладают высокой антибактериальной активностью.

3. Водные и спиртовые экстракты лука и чеснока характеризуются низкой антибактериальной активностью, тогда как гексановые экстракты луковиц этих растений показали активность, не уступающую антибиотик цефотаксиму.

4. Спиртовые экстракты перца кайенского, имбиря аптечного, плодов клюквы крупноплодной, каланхоэ Дегремона, листьев табака обыкновенного, алоэ вера, алоэ древовидного и тладианты сомнительной не обладают антибактериальной активностью.

5. Водные и спиртовые экстракты аптечных препаратов толокнянки, подорожника, зверобоя и можжевельника показали гораздо меньшую антибактериальную активность, чем цефотаксим. Из водных и спиртовых экстрактов этих растений наибольшая активность была характерна для толокнянки.

6. Наибольшей чувствительностью к экстрактам мезокарпиев, эндокарпиев и рогов плодов водяного ореха обладает *E. coli*. *S. mitis* и *S. sobrinus* показали наибольшую устойчивость к экстрактам *Trapa* L.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойко Н. Н. , Зайцев А. И. , Осолодченко Т. П., скрининг антимикробных свойств спиртоводных вытяжек из некоторых видов растительного сырья содержащего хинонпроизводные, 2014, 67 стр.
2. Государственный реестр лекарственных средств. Т. 1. М.: Минздрав России. Фонд фармацевтической информации, 2001. 1277 с.
3. Муравьёва Д.А. Фармакогнозия: учебник. М.: Медицина, 1991. 560с.
4. Н.Ф. Гусев, Ю.А. Докучаева, А.Г. Клунов, Использование *Artemisia absinthium* L. (сем. *Asteraceae*) степной зоны оренбургского Предуралья в современной фитотерапии. Оренбургский ГАУ, 2010.
5. Махлаюк В.П. Лекарственные растения в народной медицине. - М.: Нива России, 1992. - 478 с.
6. Гусев Н.Ф. К вопросу о новых перспективных видах лекарственного растительного сырья в южных областях России / Н.Ф. Гусев, О.Н. Немерешина // Известия ОГАУ. - 2008 - № 3(19). - С. 258-261.
7. Муравьёва Д.А. Фармакогнозия: учебник / Д.А. Муравьёва, И.А. Самылина, Г.П. Яковлев. - М.: Медицина, 2002. - 4-е изд., перераб., доп. - 656 с.
8. Решетникова М.Д. Химический анализ биологически активных веществ лекарственного растительного сырья и продуктов животного происхождения: учебное пособие / М.Д. Решетникова, В.Ф. Левинова, А.В. Хлебников и др.; под ред. проф. Г.И. Олешко. - Пермь: 2004. - 335 с.
9. Халецкий А. М. Фармацевтическая химия.— Л.: «Медицина», 1966.— 748 с.
10. Флавоноиды // Кнунянц И. Л. и др. Химическая энциклопедия. — М.: Советская энциклопедия, 1990
11. Краснов Е.А., Березовская Т.П. и др. Выделение и анализ природных биологически активных веществ. — Томск: Изд-во Томского университета, 1987. — 184 с.

12. Губанов И. А. и др. 942. *Trapa natans* L. s.l. — Рогульник плавающий, или Рогульник, или Чилим // Иллюстрированный определитель растений Средней России. В 3 т. — М.: Т-во науч. изд. КМК, Ин-т технолог. иссл., 2003. — Т. 2. Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные). — С. 597. — ISBN 9-87317-128-9.

13. Блинова К. Ф. и др. Ботанико-фармакогностический словарь: Справ. пособие / Под ред. К. Ф. Блиновой, Г. П. Яковлева. — М.: Высш. шк., 1990. — С. 191.

14. Ильина Н.А., Карпеева Е.А., Гусева И.Т. *e. coli* как условно-патогенные бактерии кишечника человека // Современные наукоемкие технологии. — 2008. — № 9. — С. 60-62;

15. Шрага М. Х. Основы токсикологии (для инженерных специалистов) : учебное пособие / М.Х. Шрага, А.О. Карелин, С.А. Дулов ; [под общ. ред. М.Х. Шраги]. - Архангельск : Изд-во АГТУ, 2003. - 212 с. - ISBN 5-261-00098-X : б/п

16. «Биологически активные вещества», Г.М. Баренбойм, А.Г. Маленков.

17. Зыкова С.С., Любосеев В.Н. противовоспалительная активность некоторых 3-гидрокси-1,5-диарил-4-пивалоил-2,5-дигидро-2-пирролонов. Успехи современного естествознания. — 2014. — № 8 — С. 157-158.

18. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения/ И.В. Березовская. Хим.-фарм.журнал. 2003. № 3. с. 32-34 с.

19. Аджиахметова С.Л. Андреева О.А. Оганесян Э.Т. антиоксидантная активность экстрактов из листьев, плодов и стеблей крыжовника отклоненного (*grossularia reclinata* (l) mill.). Фундаментальные исследования. — 2013. — № 10 (часть 6) — С. 1297-1301.

20. Мулдашев А.А. Водяной орех сибирский *Trapa sibirica* Fler. // Красная книга Республики Башкортостан: в 2 т. Т. 1: Растения и грибы. — 2-е изд., доп. и переработ. — Уфа: МедиаПринт, 2011. — С. 182.

21. Шевченко А.М., Артюхин А.Е., Михайлова Е.В., Кулуев Б.Р. Современное состояние изолированных популяций водяного ореха плавающего *Trapa L.* в озёрах Нуримановского района Республики Башкортостан // Редкие и исчезающие виды животных и растений Республики Башкортостан. 2017. Вып. 18. С. 30–46.

22. Кулуев Б.Р., Артюхин А.Е., Шевченко А.М., Михайлова Е.В. Водяной орех плавающий *Trapa L.*: биология, ареал распространения и исследование его изолированных популяций в озерах Нуримановского района Республики Башкортостан // Биомика. 2017. Т. 9. №2. С. 101–118.

23. Красная книга Республики Беларусь: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений. Мн. Красная книга Республики Беларусь: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды дикорастущих растений. 2006.

24. C.A. Smith, C.T. Collins, C.A. Crowther. Aromatherapy for pain management in labour. Cochrane Database Syst Rev (2011).

25. Y. Shiina, N. Funabashi, K. Lee, T. Toyoda, T. Sekine, S. Honjo, *et al.* Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. Int J Cardiol, 129 (2008), pp. 193-197.

26. T.K. Lai, M.C. Cheung, C.K. Lo, K.L. Ng, Y.H. Fung, M. Tong, *et al.* Effectiveness of aroma massage on advanced cancer patients with constipation: a pilot study. Complement Ther Clin Pract, 17 (2011), pp. 37-43.

27. Babar A., Naser Ali Al-Wabel, Saiba Shams, Aftab Ahamad, Shah Alam Khan, Firoz Anwar. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. Volume 5, Issue 8, August 2015, Pages 601-611.

28. L. Marchand. Integrative and complementary therapies for patients with advanced cancer. Ann Palliat Med, 3 (3) (2014), pp. 160-171.

29. S.H. Lee, J.Y. Kim, S. Yeo, S.H. Kim, S. Lim. Meta-analysis of massage therapy on cancer pain. Integr Cancer Ther (2015).

30. E. Hwang, S. Shin. The effects of aromatherapy on sleep improvement: a systematic literature review and meta-analysis. *J Altern Complement Med*, 21 (2) (2015), pp. 61-68.
31. K.A. Hammer, C.F. Carson, T.V. Riley. Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. *J Appl Microbiol*, 95 (2003)
32. K.J. Koh, A.L. Pearce, G. Marshman, J.J. Finlay-Jones, P.H. Hart. Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *Br J Dermatol*, 147 (2002), pp. 1212-1217.
33. Liang-liang Zhang and Yi-ming Lin. Tannins from *Canarium album* with potent antioxidant activity. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2008 May; 9(5): 407–415.
34. flavonoids (isoflavonoids and neoflavonoids) // IUPAC Gold Book
35. Juanjuan Wang, Hua Han, Xiangfeng Chen, Yanghua Yi and Hongxiang Sun, Cytotoxic and Apoptosis-Inducing Activity of Triterpene Glycosides from *Holothuria scabra* and *Cucumaria frondosa* against HepG2 Cells. *Mar Drugs*. 2014 Aug; 12(8): 4274–4290.
36. Marilena Antunes-Ricardo, Janet A. Gutiérrez-Urbe,* Carlos Martínez-Vitela, and Sergio O. Serna-Saldívar. Topical Anti-Inflammatory Effects of Isorhamnetin Glycosides Isolated from *Opuntia ficus-indica*. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 847320.
37. Yadollah Bahrami and Christopher M. M. Franco. Acetylated Triterpene Glycosides and Their Biological Activity from Holothuroidea Reported in the Past Six Decades. *Mar Drugs*. 2016 Aug; 14(8): 147.
38. Bamigboye J Taiwo and Oluwatoyin A Igbeneghu .Antioxidant and Antibacterial Activities of Flavonoid Glycosides from *Ficus Exasperata* Vahl-Holl (Moraceae) Leaves. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2014; 11(3): 97–101.
39. Augustin JM, Kuzina V, Andersen SB, Bak S. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Phytochemistry*. 2011;72:435–57

40. Morrissey JP, Osbourn AE. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1999;63:708–24.
41. Osbourn A, Goss RJ, Field RA. The saponins: polar isoprenoids with important and diverse biological activities. *Nat Prod Rep.* 2011;28:1261–8
42. Sparg SG, Light ME, Van Staden J. Biological activities and distribution of plant saponins. *J Ethnopharmacol.* 2004;94:219–43.
43. Tessa Moses, Kalliope K. Papadopoulou, and Anne Osbourn. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2014 Nov; 49(6): 439–462.
44. De Costa F, Yendo AC, Fleck JD, et al. Accumulation of a bioactive triterpene saponin fraction of *Quillaja brasiliensis* leaves is associated with abiotic and biotic stresses. *Plant Physiol Biochem.* 2013;66:56–62.
45. Szakiel A, Pączkowski C, Henry M. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants. *Phytochem Rev.* 2011;10:471–91.
46. E.Niro R. Marzaioli S. De Crescenzo B. D'Abrosca S. Castaldi A. Esposito A. Fiorentino F. A. Rutigliano. Effects of the allelochemical coumarin on plants and soil microbial community. Volume 95, April 2016, Pages 30-39
47. Ross J. A , Kasum C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety // *Annu Rev Nutr.* — 2002. — T. 22. — C. 19-34.
48. Bing Li, Ramdas Pai, Ming Di, Daniel Aiello, Marjorie H. Barnes, Michelle M. Butler, Tommy F. Tashjian, Norton P. Peet, Terry L. Bowlin, Donald T. Moir. Coumarin-based Inhibitors of *Bacillus anthracis* and *Staphylococcus aureus* Replicative DNA Helicase: Chemical Optimization, Biological Evaluation, and Antibacterial Activities. 2012 Dec 27; 55(24): 10896–10908.
49. Feng X, Yan D, Zhao KJ, Luo JY, Ren YS, Kong WJ, Han YM, Xiao XH. Applications of microcalorimetry in the antibacterial activity evaluation of

various *Rhizoma coptidis*. Pharm Biol. 2011;49(4):348–353. doi: 10.3109/13880209.2010.523428.

50. Li WY, Chan SW, Guo DJ, Chung MK, Leung TY, Yu PH. Water extract of *Rheum officinale* Baill. induces apoptosis in human lung adenocarcinoma A549 and human breast cancer MCF-7 cell lines. J Ethnopharmacol. 2009;124(2):251–256. doi: 10.1016/j.jep.2009.04.030.

51. Wang XN, Xu LN, Peng JY, Liu KX, Zhang LH, Zhang YK. *In vivo* inhibition of S180 tumors by the synergistic effect of the Chinese medicinal herbs *Coptis chinensis* and *Evodia rutaecarpa*. Planta Med. 2009;75(11):1215–1220. doi: 10.1055/s-0029-1185538.

52. Xia X, Yan J, Shen Y, Tang K, Yin J, Zhang Y, Yang D, Liang H, Ye J, Weng J. Berberine improves glucose metabolism in diabetic rats by inhibition of hepatic gluconeogenesis. PLoS One. 2011;6(2):e16556. doi: 10.1371/journal.pone.0016556.

53. Xiaoguang Liang, Bo Li, Fei Wu, Tingzhao Li, Youjie Wang, Qiang Ma, and Shuang Liang. Bitterness and antibacterial activities of constituents from *Evodia rutaecarpa*. 2017; 17: 180.

54. Liao JF, Chiou WF, Shen YC, Wang GJ, Chen CF. Anti-inflammatory and anti-infectious effects of *Evodia rutaecarpa* (Wuzhuyu) and its major bioactive components. Chin Med. 2011;6(1):6–13. doi: 10.1186/1749-8546-6-6.

55. Xu M-L, Moon D-C, Lee C-S, Woo M-H, Lee E, Jahng Y, Chang H-W, Lee S-H, Son J-K. Cytotoxicity and DNA topoisomerase inhibitory activity of constituents isolated from the fruits of *Evodia officinalis*. Arch Pharm Res. 2006;29(7):541–547. doi: 10.1007/BF02969262.

56. Kumari M, Gupta RP (2015) *In vitro* antibacterial effect of *Withania somnifera* root extract on *Escherichia coli*, Veterinary World, 8(1): 57-60.

57. Harikrishnan, B., Subramanian, P. and Subash, S. (2008) Effect of *Withania somnifera* root powder on the levels of circulatory lipid peroxidation and liver marker enzymes in chronic hyperammonemia. E-J. Chem., 5: 872-877.

58. Kaur, P, Sharma, M. and Mathur, S. (2003) Effect of 1-oxo-5 β , 6 β -epoxy-witha-2-ene-27-ethoxy-olide isolated from the roots of *Withania somnifera* on stress indices in Wistar rats. *J. Altern. Complement. Med.*, 9: 897-907.
59. Manoharan, S, Ramesh, S., Prathiban, M., Koteeswaran, A., Chandran, N.D.J. and Reddy, M.R. (2004) Effect of a poly herbal ingredient on day old chick quality by feeding in parent flocks. *Int. J. Poult. Sci.*, 3: 773-778.
60. Khazal K, Samuel T, Hill DL, Ge X, Grubbs C. Effect of an extract of *Withania somnifera* on human breast cancer Cells. *Faseb J.* 2012;26:852.12
61. Khazal KF, Samuel T, Hill DL, Grubbs CJ. Effect of an extract of *Withania somnifera* root on estrogen receptor-positive mammary carcinomas. *Anticancer Res.* 2013;33(4):1519-23.
62. Khan MA, Ahmad R, Trivedi A, Srivastava AN. Determination of combined effect of pH and *Withania somnifera* on human breast cancer cell line MDA-MB 231. *Austin J Cancer Clin Res.* 2015;2(6):1050.
63. Geeta Singh, Padma Kumar. Antibacterial activity of flavonoids of *Withania somnifera* L. 2014
64. Bano A, Sharma N, Dhaliwal HS, Sharma VA. Systematic and comprehensive review on *Withania somnifera* (L.) Dunal-An Indian ginseng. *Br J Pharm Res.* 2015; 7(2):63-75.
65. Dar NJ A, Hamid A, Ahmad M. Pharmacologic overview of *Withania somnifera*, the Indian Ginseng. *Cell Mol Life Sci.* 2015;1-16.
66. Vanden Berghe W, Sabbe L, Kaileh M, Haegeman G, Heyninck K. Molecular insight in the multifunctional activities of Withaferin A. *Biochem Pharmacol.* 2012; 84(10):282-91.
67. Mishra LC, Singh BB, Dagenais S. Scientific basis for the therapeutic use of *Withania somnifera* (Ashwagandha): A review. *Altern Med Rev.* 2000;5(4):334-346

68. D. A. Barnes, R. Barlow, P. Singh Nigam and R. Owusu-Apenten. Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Activity of *Withania somnifera* Aqueous Root Extract. 2016.
69. Burak M & Imen Y (1999) Flavonoids and their antioxidant properties. *Turkiye Klin Tip Bil Derg* 19, 296–304.
70. Joginder Singh, Manoj Kumar. *Trapa natans* as Green Drug to Pathogenic *Escherichia coli*. 2012.
71. He, N., Wang, Z. Y., Yang, C. X., Lu, Y. H., & Sun, D. S. (2009). Isolation and identification of polyphenolic compounds in longan pericarp. *Separation and Purification Technology*, 70, 219e224.
72. Prasad, K. N., Xie, H. H., Hao, J., Yang, B., & Qiu, S. X. (2010). Antioxidant and anticancer activities of 8-hydroxypsoralen isolated from wampee [*Clausena lansium* (Lour.) skeels] peel. *Food Chemistry*, 118, 62e66.
73. Wang, X. J., Yuan, S. L., Wang, J., Lin, P., & Liu, G. J. (2006). Anticancer activity of litchi fruit pericarp extract against human breast cancer in vitro and in vivo. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 215, 168e178.
74. Yu, L. M., Zhao, M. M., Yang, B., & Bai, W. D. (2009). Immunomodulatory and anticancer activities of phenolics from *Garcinia mangostana* fruit pericarp. *Food Chemistry*, 116, 969e973.
75. Li Z, Wang Y, Gao M, Cui W, Zeng M, Cheng Y, Li J. Nine New Gingerols from the Rhizoma of *Zingiber officinale* and Their Cytotoxic Activities. 2018.
76. Ovando C, Hernandez D, Hernandez E, et al. (2009) Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chem* 113, 859–871.
77. Drozdov VN, Kim VA, Tkachenko EV, Varvanina GG. Influence of a specific ginger combination on gastropathy conditions in patients with osteoarthritis of the knee or hip // *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. — 2012. — Vol. 18, № 6. — P. 583-8.

78. Haniadka R, Saldanha E, Sunita V, Palatty PL, Fayad R, Baliga MS. A review of the gastroprotective effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) // Food & function. — 2013. — Vol. 4, № 6. — P. 845-55.

79. M.Thomsona, K.K.Al-Qattana, S.M.Al-Sawana, M.A.Alnaqeeba, I.Khanb, M.Ali. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent // Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. — 2002. — Vol. 67, № 6. — P. 475-478.

80. Jaw-Chyun Chen et al. Ginger and Its Bioactive Component Inhibit Enterotoxigenic *Escherichia coli* Heat-Labile Enterotoxin-Induced Diarrhea in Mice // Journal of Agricultural and Food Chemistry. — 2007. — Vol. 55, № 21. — P. 8390—8397.

81. Burkill HM. The useful plants of west tropical Africa. 1985; 4.

82. Hasrat JA, Pieters L, Vlietinc KAJ. Medicinal plants in Suriname. Hypotensive effect of *Gossypium barbadense*. J Pharm Pharmacol 2004;56:381-7.

83. Salako OA., Awodele O. Evaluation of the antimalarial activity of the aqueous leaf extract of *Gossypium barbadense* (Malvaceae) in mice. Drugs and Therapy Studies 2012; 2:e2

84. Eugene Ikobi, Cecelia.I.Igwilo , Olufunso Awodele, Chukwuemeka Azubuike. Antibacterial and Wound Healing Properties of Methanolic extract of dried fresh *Gossypium barbadense* Leaves. 2012

85. Gupta S, Kapur S, Padmavathi DV, Verma A. Garlic: an effective functional food to combat the growing antimicrobial resistance. Pertanika J Trop Agric Sci 2015; 38(2): 271-8.

86. Bashir Lawal, Oluwatosin Kudirat Shittu, Florence Inje Oibiokpa, Hadiza Mohammed, Sheriff Itopa Umar, Garba Muhammed Haruna. Antimicrobial evaluation, acute and sub-acute toxicity studies of *Allium sativum*. 2016

87. Y. Sharma 1, D. Dua 1, A. Nagar 2 and N. S. Srivastava. antibacterial activity, phytochemical screening and antioxidant activity of stem of *nicotiana tabacum*. 2016
88. Lee Y, Yuk D, Lee J, et al. (2009) Epigallocatechin-3-gallate prevents lipopolysaccharide-induced elevation of β -amyloid generation and memory deficiency. Brain Res 1250, 164–174.
89. A. N. Panche, A. D. Diwan and S. R. Chandra, Flavonoids: an overview, 2016.
90. Madeleine W. Cunningham. Pathogenesis of Group A Streptococcal Infections. 2000 Jul; 13(3): 470–511.
91. Bichitrananda Swain and Sarita Otta. *Streptococcus mitis*: An Unusual Causative Agent for Urinary Tract Infection. 2013 Jul-Dec; 5(2): 144–145.
92. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. Nature. 2012;486:207–14 . 10.1038/nature11234
93. Dix D, Cellot S, Price V, Gillmeister B, Ethier MC, Johnston DL, et al. Association between corticosteroids and infection, sepsis, and infectious death in pediatric acute myeloid leukemia (AML): results from the Canadian Infections in AML Research Group. Clin Infect Dis. 2012;55:1608–14 10.1093/cid/cis774
94. Seo HS, Xiong YQ, Mitchell J, Seepersaud R, Bayer AS, Sullam PM. Bacteriophage lysin mediates the binding of *Streptococcus mitis* to human platelets through interaction with fibrinogen. PLoS Pathog. 2010;6:e1001047 10.1371/journal.ppat.1001047
95. Bochud PY, Eggiman P, Calandra T, Van Melle G, Saghafi L, Francioli P. Bacteremia due to viridans streptococcus in neutropenic patients with cancer: clinical spectrum and risk factors. Clin Infect Dis. 1994;18:25–31 . 10.1093/clinids/18.1.25
96. Gassas A, Grant R, Richardson S, Dupuis LL, Doyle J, Allen U, et al. Predictors of viridans streptococcal shock syndrome in bacteremic children

with cancer and stem-cell transplant recipients. *J Clin Oncol*. 2004;22:1222–7
10.1200/JCO.2004.09.108

97. Samuel A. Shelburne, Pranoti Sahasrabhojane, Miguel Saldana, Hui Yao, Xiaoping Su, Nicola Horstmann, Erika Thompson, and Anthony R. Flores. *Streptococcus mitis* Strains Causing Severe Clinical Disease in Cancer Patients. 2014 May; 20(5): 762–771.

98. Steven Y. C. Tong, Joshua S. Davis, Emily Eichenberger, Thomas L. Holland, and Vance G. Fowler, Jr. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. 2015 Jul; 28(3): 603–661.

99. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. 2005. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 5:751–762. doi:10.1016/S1473-3099(05)70295-4.

100. François L. Mayer, Duncan Wilson, and Bernhard Hube. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. 2013 Feb 15; 4(2): 119–128.

101. Ruhnke M. Skin and mucous membrane infections. In: Calderone RA, ed. *Candida* and Candidiasis: ASM Press, Washington, DC, pp. 307-325., 2002.

102. Hurley R, De Louvois J. *Candida* vaginitis. *Postgrad Med J*. 1979;55:645–7. doi: 10.1136/pgmj.55.647.645.

103. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet*. 2007;369:1961–71. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60917-9.

104. Khan MT, Orhan I & Enol SS (2009) Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chem Biol Interact* 181, 383–389.

105. D'Mello P, Gadhwal M, Joshi U, et al. (2011) Modeling of COX-2 inhibitory activity of flavonoids. *Int J Pharm Pharm Sci* 3, 33–40.

106. De Souza V, De Franco E, De Araujo M, et al. (2016) Characterization of the antioxidant activity of aglycone and glycosylated derivatives of hesperetin: an *in-vitro* and *in-vitro* study. J Mol Recognit 29, 80–87.
107. Dinda B, Debnath S, Banik R. Naturally Occurring Iridoids and Secoiridoids. An Updated Review, Part 4. (PDF) P. 803-832. Chemical & pharmaceutical bulletin. (July 2011).
108. Yong-Soon Park, Kyungseok Park, Joseph W. Kloepper and Choong-Min Ryu. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Stimulate Vegetative Growth and Asexual Reproduction of *Kalanchoe daigremontiana*. Plant Pathol J. 2015 Sep; 31(3): 310–315.
109. Supratman U, Fujita T, Akiyama K, Hayashi H. New insecticidal bufadienolide, bryophyllin C, from *Kalanchoe pinnata*. Biosci Biotechnol Biochem. 2000;64:1310–1312. doi: 10.1271/bbb.64.1310.
110. Supratman U, Fujita T, Akiyama K, Hayashi H, Murakami A, Sakai H, Koshimizu K, Ohigashi H. Anti-tumor promoting activity of bufadienolides from *Kalanchoe pinnata* and *K. daigremontiana* × *tubiflora*. Biosci Biotechnol Biochem. 2001;65:947–949. doi: 10.1271/bbb.65.947.
111. Shelton RW. *Aloe vera*. Its chemical and therapeutic properties. Int J Dermatol. 1991;30:679–83.
112. Atherton P. *Aloe vera* revisited. Br J Phytother. 1998;18:76–83.
113. Atherton P. The Essential Aloe Vera: The Actions and the Evidence. Mill Enterprises. (2nd ed) 1997.
114. Samman S. Lipid metabolism. In: Kuchel PW, Ralston GB, editors. Schaum's Outlines of Theory and Problems of Biochemistry. New York: McGraw Hill Book Company; 1998. pp. 362–401.
115. Arshad H. Rahmani, Yousef H. Aldebasi, Sauda Srikar, Amjad A. Khan, and Salah M. Aly. *Aloe vera*: Potential candidate in health management via modulation of biological activities. Pharmacogn Rev. 2015 Jul-Dec; 9(18): 120–126.

116. Keisuke Fujita, Yasuo Yamada, Keizou Azuma and Susumu Hirozawa. Effect of Leaf Extracts of *Aloe arborescens* Mill subsp. *natalensis* Berger on Growth of *Trichophyton mentagrophytes*. Antimicrob Agents Chemother. 1978 Jul; 14(1): 132–136.
117. Md. Mominur Rahman, Md. Razibul Habib, Md. Anayet Hasan, Mohammad Al Amin, Ayan Saha and Adnan Mannan. Comparative assessment on *in vitro* antioxidant activities of ethanol extracts of *Averrhoa bilimbi*, *Gymnema sylvestre* and *Capsicum frutescens*. Pharmacognosy Res. 2014 Jan-Mar; 6(1): 36–41.
118. Saeed S, Tariq P. Effects of some seasonal vegetables and fruits on the growth of bacteria. Pak J Biol Sci. 2006;9:1547–51.
119. Puett D, Wasserman BK, Ford JD, Cunningham LW. Collagen-mediated platelet aggregation. Effects of collagen modification involving the protein and carbohydrate moieties. J Clin Invest. 1973;52:2495–506.
120. Vinayaka KS, Kekuda PT, Nandini KC, Rakshitha MN, Martis R, Shruthi J, et al. Potent insecticidal activity of fruits and leaves of *Capsicum frutescens* (L.) var. *longa* (*Solanaceae*) Der Pharm Lett. 2010;2:172–6.
121. Barik R, Jain S, Qwatra D, Joshi A, Tripathi GS, Goyal R. Antidiabetic activity of aqueous root extract of *Ichnocarpus frutescens* in streptozotocin-nicotinamide induced type-II diabetes in rats. Indian J Pharmacol. 2008;40:19–22.
122. Ohnishi R, Ito H, Kasajima N, Kaneda M, Kariyama R, Kumon H, et al. Urinary excretion of anthocyanins in humans after cranberry juice ingestion. Biosci, Biotechnol, Biochem. 2006;70(7):1681–7.
123. Chen H, Zuo Y, Deng Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. J Chrom A. 2001;913(1):387–95.
124. Howell AB, Reed JD, Krueger CG, Winterbottom R, Cunningham DG, Leahy M. A-type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. Phytochemistry. 2005;66(18):2281–91.

125. Crittenden R, Playne MJ. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. *Trends Food Sci Tech.* 1996;7(11):353–61.

126. Jiadong Sun, Weixi Liu, Hang Ma, Jannie P. J. Marais, Christina Khoo, Joel A. Dain, David C. Rowley and Navindra P. Seeram. Effect of cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) oligosaccharides on the formation of advanced glycation end-products. *J Berry Res.* 2016; 6(2): 149–158.

127. Souravh Bais, Naresh Singh Gill, Nitin Rana and Shandeep Shandil. A Phytopharmacological Review on a Medicinal Plant: *Juniperus communis*. *Int Sch Res Notices.* 2014; 2014: 634723.

128. Modnicki D., Łabędzka J. Estimation of the total phenolic compounds in juniper sprouts (*Juniperus communis*, *Cupressaceae*) from different places at the kujawsko-pomorskie province. *Herba Polonica.* 2009;55(3)

129. Abbassy M. A., Marei G. I. Antifungal and chemical composition of essential oils of *J. communis* and *Thymus vulgaris* against two phytopathogenic fungi. *Journal of Applied Sciences Research.* 2013;9(8):4584–4588.

130. Banerjee S., Mukherjee A., Chatterjee T. K. Evaluation of analgesic activities of methanolic extract of medicinal plant *Juniperus communis* Linn. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2012;4(5):547–550.

131. Manvi, Garg G. P. Screening and evaluation of pharmacognostic, phytochemical and hepatoprotective activity of *J. communis* L. Stems. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 2010;1(3)

132. Banerjee S., Singh H., Chatterjee T. K. Evaluation of anti-diabetic and anti-hyperlipidemic potential of methanolic extract of *Juniperus Communis* (L.) in streptozotocinnicotinamide induced diabetic rats. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.* 2013;4(3):P10–P17.

133. Pepeljnjak S., Kosalec I., Kalodera Z., Blažević N. Antimicrobial activity of juniper berry essential oil (*Juniperus communis* L., *Cupressaceae*) *Acta Pharmaceutica.* 2005;55(4):417–422.

134. Hoferl M., Stoilova I., Schmidt E., et al. Chemical composition and antioxidant properties of Juniper Berry (*J. communis* L.) Essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism. *Antioxidants*. 2014;3(1):81–98. doi: 10.3390/antiox3010081.
135. Akdogan M., Koyu A., Ciris M., Yildiz K. Anti-hypercholesterolemic activity of *J. communis* Oil in rats: a biochemical and histopathological investigation. *Biomedical Research*. 2012;23(3):321–328.
136. Sati S. C., Joshi S. Antibacterial potential of leaf extracts of *Juniperus communis* L. from Kumaun Himalaya. *African Journal of Microbiology Research*. 2010;4(12):1291–1294.
137. Bais S., Gill S., Rana N. Effect of *J. communis* extract on reserpine induced catalepsy. *Inventi Rapid: Ethnopharmacology*. 2014;2014(4):1–4.
138. Wills R. B. H., Bone K., Morgan M. Herbal products: active constituents, modes of action and quality control. *Nutrition Research Reviews*. 2000;13(1):47–77. doi: 10.1079/095442200108729007.
139. Butterweck V. Mechanism of action of St John's wort in depression: what is known? *CNS Drugs*. 2003;17(8):539–562. doi: 10.2165/00023210-200317080-00001.
140. Milosevic T., Solujic S., Sukdolak S. In vitro study of ethanolic extract of *Hypericum perforatum* L. on growth and sporulation of some bacteria and fungi. *Turkish Journal of Biology*. 2007;31(4):237–241.
141. Soheila Yadollah-Damavandi, Mehdi Chavoshi-Nejad, Ehsan Jangholi, Noushin Nekouyian, Sahar Hosseini, Amin Seifaei, Shima Rafiee, Hossein Karimi, Soheil Ashkani-Esfahani, Yekta Parsa and Maryam Mohsenikia. Topical *Hypericum perforatum* Improves Tissue Regeneration in Full-Thickness Excisional Wounds in Diabetic Rat Model. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015; 2015: 245328.

142. Najafian Y, Hamed SS, Farshchi MK, Feyzabadi Z. *Plantago major* in Traditional Persian Medicine and modern phytotherapy: a narrative review. *Electron Physician*. 2018 Feb 25;10(2):6390-6399. doi: 10.19082/6390. eCollection 2018 Feb.
143. Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Lin CC. *In vitro* cytotoxic, antiviral and immunomodulatory effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. *Am J Chin Med*. 2003;31:225–34.
144. Gomez-Flores R, Calderon CL, Scheibel LW, Tamez-Guerra P, Rodriguez-Padilla C, Tamez-Guerra R, et al. Immunoenhancing properties of *Plantago major* leaf extract. *Phytother Res*. 2000;14:617–22.
145. Türel I, Ozbek H, Erten R, Oner AC, Cengiz N, Yilmaz O. Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. *Indian J Pharmacol*. 2009;41:120–4.
146. Sonja Krstin, Mansour Sobeh, Markus Santhosh Braun and Michael Wink. Anti-Parasitic Activities of *Allium sativum* and *Allium cepa* against *Trypanosoma b. brucei* and *Leishmania tarentolae*. *Medicines* 2018, 5(2), 37; doi:10.3390/medicines5020037.
147. Mnayer, D.; Fabiano-Tixier, A.S.; Petitcolas, E.; Hamieh, T.; Nehme, N.; Ferrant, C.; Fernandez, X.; Chemat, F. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae family. *Molecules* 2014, 19, 20034–20053.
148. Munday, R.; Munday, C.M. Relative activities of organosulfur compounds derived from onions and garlic in increasing tissue activities of quinone reductase and glutathione transferase in rat tissues. *Nutr. Cancer* 2001, 40, 205–210.
149. Sendl, A. *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 1 Chemistry, analysis, history, botany. *Phytomedicine* 1995, 1, 323–339.
150. Suleria, H.A.; Butt, M.S.; Anjum, F.M.; Saeed, F.; Khalid, N. Onion: Nature protection against physiological threats. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr*. 2015, 55, 50–66.

151. Tundis R, Loizzo MR, Menichini F, Statti GA, Menichini F. Biological and pharmacological activities of iridoids: recent developments. P. 399-420. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry (April 2008).
152. Viljoen A, Mncwangi N, Vermaak I., Anti-inflammatory iridoids of botanical origin. *Curr Med Chem.* 2012;19(14):2104-27.
153. N. Perry, E. Perry. Aromatherapy in the management of psychiatric disorders clinical and neuropharmacological perspectives. *CNS Drugs*, 20 (2006), pp. 257-280
154. D. Jimbo, Y. Kimura, M. Taniguchi, M. Inoue, K. Urakami. Effect of aromatherapy on patients with Alzheimer's disease. *Psychogeriatrics*, 9 (2009), pp. 173-179
155. Khanna P. K., Kumar A., Chandra R., Verma V. Germination behaviour of seeds of *Withania somnifera* (L.) Dunal: a high value medicinal plant // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. – 2013. – Vol 19(3). – P. 449 – 454.

ОТЗЫВ НАУЧНОГО РУКОВОДИТЕЛЯ

Зулькарнаева Екатерина Шамильевна выполнила выпускную квалификационную работы (ВКР) на тему «Антимикробная активность генетически трансформированных корней и растений, растущих в условиях *in vivo*».

ВКР посвящена определению антимикробной активности экстрактов генетически трансформированных корней витании и табака, а также растений, растущих в условиях *in vivo*. В ходе выполнения работы была показана высокая антимикробная активность экстрактов эндосперма плодов водяного ореха, сравнимая с активностью цефотаксима.

Зулькарнаева Е.Ш. за время обучения в БГМУ проявила себя как трудолюбивый, упорный и целеустремленный студент. Она приняла участие в написании научной экспериментальной статьи (Кулуев Б.Р., Зулькарнаева Е.Ш., Артюхин А.Е., Михайлова Е.В. Антибактериальная активность спиртового экстракта эндосперма водяного ореха *Trapa sibirica* Fler. // Экобиотех. 2018. Т.1. №1. С. 45-51). В процессе выполнения ВКР Зулькарнаева Е.Ш. освоила основные методы микробиологии, биохимии и биотехнологии. Полученные в ходе выполнения результаты были апробированы и доложены на Всероссийской конференции молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве, ветеринарии». 19-20 апреля 2018 г. Москва и Международной научной конференции PLAMIC2018 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего». Уфа, 13-17 июня 2018 г. Считаю, что ВКР Зулькарнаевой Е.Ш. заслуживает оценки Отлично.

РАБОТА ДОПУСКАЕТСЯ К ЗАЩИТЕ.

Научный руководитель:
д.б.н., профессор кафедры
фундаментальной и прикладной
микробиологии ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России Б.Р. Кулуев

Кулуев



ОТЗЫВ

внешнего рецензента кандидата биологических наук, доцента Федяева Вадима Валентиновича на выпускную квалификационную работу Зулькарнаевой Екатерины Шамильевны «Антимикробная активность генетически трансформированных корней и растений, растущих в условиях *in vivo*».

Актуальность темы исследования. Исследование антимикробных свойств генетически трансформированных корней и растений, растущих в условиях *in vivo* будет полезным в науке и практике, а свойства этих корней и растений в целом помогут сделать процесс более выгодным в промышленном плане.

Теоретическая и практическая значимость работы. Экстракты плодов водяного ореха могут быть рекомендованы в качестве источника антимикробных веществ. Представляет большой интерес выделение соединений с антибактериальной активностью, содержащихся в эндосперме плодов водяного ореха.

Достоверность и апробация результатов исследования. Достоверность результатов исследования обеспечивается правильной постановкой экспериментов, большой выборкой и использованием адекватных методов исследования и статистической обработки. Результаты исследования опубликованы в статье Кулуев Б.Р., Зулькарнаева Е.Ш., Артюхин А.Е., Михайлова Е.В. Антибактериальная активность спиртового экстракта эндосперма водяного ореха *Trapa sibirica* Fler. // Экобиотех. 2018. Т.1. №1. С. 45-51 и апробированы на Всероссийской конференции молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве, ветеринарии», 19-20 апреля 2018 г. Москва и Международной научной конференции PLAMIC2018 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего», Уфа, 13-17 июня 2018 г.

Оценка содержания, завершенности и оформления ВКР. ВКР оформлена по традиционному принципу, с соблюдением основных правил, представляет собой завершенную научную работу.

Заключение. Таким образом, выпускная квалификационная работа Зулькарнаевой Екатерины Шамильевны «Антимикробная активность генетически трансформированных корней и растений, растущих в условиях *in vivo*», выполненная под руководством доктора биологических наук, Кулуева Булата Разяповича является завершенной и соответствует требованиям ФГОС ВО (приказ Минобрнауки РФ №944 от 07.08.2014 г.) по направлению подготовки 06.03.01. – Биология (бакалавриат).

Кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации (Адрес: г.Уфа, ул. Заки Валиди, 32. Тел.: (347) 229-97-21, E-mail: vadim.fedyaev@gmail.com)



Вадим Валентинович Федяев



АНТИПЛАГИАТ
ТВОРИТЕ СОБСТВЕННЫМ УМОМ

Башкирский государственный
медицинский университет

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

Проверка выполнена в системе
Антиплагиат.ВУЗ

Автор работы	Зулькарнаева Е.Ш.
Факультет, кафедра, номер группы	Б-401Б
Тип работы	Дипломная работа
Название работы	Антимикробная активность генетически трансформированных корней растений, растущих в условиях in vivo
Название файла	Антимикробная активность генетически трансформированных корней растений, растущих в условиях in vivo.docx
Процент заимствования	5,18%
Процент цитирования	6,75%
Процент оригинальности	88,07%
Дата проверки	13:18:08 22 июня 2018г.
Модули поиска	Модуль поиска перефразирования Интернет; Кольцо вузов; Модуль поиска общеупотребительных выражений; Модуль поиска Интернет; Модуль поиска переводных заимствований; Цитирование; Коллекция РГБ; Сводная коллекция ЭБС; Модуль выделения библиографических записей; Модуль поиска "БГМУ"

Работу проверил Кобзева Наталья Рудольфовна
ФИО проверяющего

Дата подписи

22.06.2018г.

ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России
НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
Подпись проверяющего

Чтобы убедиться
в подлинности справки,
используйте QR-код, который
содержит ссылку на отчет.



Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование
корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего.
Предоставленная информация не подлежит использованию
в коммерческих целях.