ХИМИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ. 2020. №4. С. 203–210.
DOI: 10.14258/jcprm.2020047505

УДК 615.322:615.076.7:615.017

АНТИМИКРОБНАЯ И АНТИРАДИКАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ *PINUS SIBIRICA* DU TOUR И *ABIES SIBIRICA* LEDEB., ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ

© ***А.А. Ефремов[1,2], И.Д. Зыкова[1*], В.А. Сенашова[3], И.Д. Гродницкая[3], Н.В. Пашенова[3]***

[1] Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, 79, Красноярск, 660049 (Россия), e-mail: izykova@sfu-kras.ru
[2] Специальное конструкторско-технологическое бюро «Наука» Федерального исследовательского центра КНЦ СО РАН, Академгородок, 50, стр. 45, Красноярск, 660036 (Россия)
[3] Институт леса им. В.Н. Сукачева Федерального исследовательского центра КНЦ СО РАН, Академгородок, 50, стр. 28, Красноярск, 660036 (Россия)

Методом исчерпывающей гидропародистилляции получено эфирное масло из лапки сосны сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour) и пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.), произрастающих на территории Красноярского края. Получены отдельные фракции масла: первая – через 45 мин от начала перегонки, вторая – через 2 ч, третья – через 5 ч, четвертая – через 6 ч, пятая фракция была собрана после окончания гидропародистилляции. Исследована антимикробная активность отдельных фракций эфирного масла *P. sibirica* и *A. sibirica* в отношении штаммов условно патогенных микроорганизмов: *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus 209p, Micrococcus luteus, Acinetobacter baumanii, Candida albicans*. Выполненные исследования показали, что все изучаемые образцы эфирных масел проявляли либо бактерицидную, либо бактериостатическую активность в отношении взятых в эксперимент штаммов микроорганизмов, кроме *Pseudomonas aeruginosa*. Вид проявляемой активности зависел от вида штамма и образца эфирного масла. Отмечено, что в основном чувствительность взятых в эксперимент штаммов к компонентам эфирных масел *P. sibirica* и *A. sibirica* при переходе от первой к последней фракции ослабевает. Предполагаем, что, по-видимому, это связано с уменьшением в составе масел количества монотерпенов.

Для изучения антирадикальной активности использовали реакцию компонентов эфирного масла со стабильным свободным 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил радикалом. Установлена антирадикальная активность как цельных эфирных масел *P. sibirica* и *A. sibirica*, так и их отдельных фракций. Отмечено возрастание антирадикальной активности при уменьшении содержания монотерпенов в составе эфирного масла.

Ключевые слова: сосна сибирская (*Pinus sibirica Du Tour*), пихта сибирская (*Abies sibirica Ledeb.*), отдельные фракции эфирного масла, антимикробная активность, антирадикальная активность, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил.

Введение

Сибирь – крупнейший лесосырьевой регион не только Российской Федерации, но и всего мира, так как содержит 19% мировых запасов древесины. В лесах Сибири преобладают насаждения хвойных пород: на их долю приходится более 83% площади и 88% запаса древесины [1]. В составе лесов преобладает лиственница (52% по площади и 46% по запасу), сосна (16 и 20% соответственно) и кедр (8 и 12% соответственно). Значительна доля ели и пихты (вместе 7% и 10% соответственно), а также мягколиственных пород (13 и 12% соответственно), представленных преимущественно березой.

Хвойные древесные растения богаты эфирными маслами, их содержание в хвое пихты сибир-

Ефремов Александр Алексеевич – доктор химических наук, профессор кафедры химии, заведующий отделом КПРС, e-mail: aefremov@sfu-kras.ru
Зыкова Ирина Дементьевна – кандидат технических наук, доцент кафедры химии, e-mail: izykova@sfu-kras.ru
Сенашова Вера Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии и экологической биотехнологии, e-mail: izykova@sfu-kras.ru

Окончание на С. 204.

* Автор, с которым следует вести переписку.

ской может достигать 4–6 вес. % [2]. Анализ литературных данных показывает, что компонентный состав эфирных масел практически всех хвойных растений, в том числе *P. sibirica* и *A. sibirica,* достаточно хорошо изучен [2–8]. Так, отличительной чертой эфирных масел сосен является высокое содержание пиненов, причем для представителей рода *Pinus* количественное соотношение α- и β-пиненов индивидуально в зависимости от видовой принадлежности растения. У ряда видов установлено присутствие значительных количеств Δ-3-карена.

Основными компонентами эфирных масел пихты являются пинены, камфен и борнилацетат, количественным содержанием которого определяется сортность пихтового масла.

Известно, что эфирные масла обладают бактерицидной и бактериостатической активностью к различным микроорганизмам и грибкам, кроме того, некоторые из них обладают значительной антирадикальной активностью [9–14]. Экспериментально доказано, что антибактериальное действие эфирных масел распространяется практически на все группы микроорганизмов. Отмечено, что на кокковидные микроорганизмы эфирные масла влияют активнее, чем на палочковидные бактерии. Наибольшей резистентностью к биологически активным веществам растительного происхождения обладают вульгарный протей, синегнойная палочка, клебсиеллы [15]. Установлены антибактериальные свойства эфирных масел можжевельника обыкновенного и ели обыкновенной [6, 7, 16].

Результаты исследований антиоксидантных свойств эфирных масел хвойных показали, что наибольшей величиной антиоксидантной активности обладает эфирное масло сосны сибирской, наименьшей – эфирное масло пихты сибирской, промежуточное положение занимает эфирное масло можжевельника обыкновенного [8].

Синтетические и природные соединения, обладающие антиоксидантной и антирадикальной активностью, защищают клетки живого организма от разрушения и способствуют длительной сохранности многих пищевых продуктов [14]. В силу этого такие соединения принято считать необходимыми ингредиентами здорового питания, защищающими живой организм от окислительного стресса. Кроме того, в последнее время наблюдается рост числа штаммов микроорганизмов, устойчивых к большинству известных антибиотиков, поэтому важной задачей является поиск природных продуктов, которые могут быть использованы для получения новых антимикробных препаратов [17, 18].

При изучении динамики выделения эфирных масел было установлено, что их компонентный состав изменяется в процессе перегонки. Первые фракции обогащаются легколетучими компонентами, последние фракции, наоборот, – труднолетучими компонентами [4]. Различия в компонентном составе фракций могут повлиять и на их активность.

Цель данного исследования – определение антимикробной и антирадикальной активности отдельных фракций эфирного масла *P. sibirica* и *A. sibirica*, произрастающих в Красноярском крае.

Материалы и методы

Эфирные масла указанных хвойных древесных растений получали из лапки, собранной в июле 2019 г. с 25–30 деревьев Манского района Красноярского края. Свежую лапку (не менее 1000 г) загружали в перегонный аппарат объемом 20 л и собирали выделяющееся масло в течение 20 ч через определенные промежутки времени в условиях гидропародистилляции в насадку Клевенджера. В результате чего были получены отдельные фракции масла: первая – через 45 мин от начала перегонки, вторая – через 2 ч, третья – через 5 ч, четвертая – через 6 ч, пятая фракция была собрана после окончания гидропародистилляции. Компонентный состав полученных масел был исследован нами ранее с использованием метода хромато-масс-спектрометрии и описан в [4].

Определение антимикробных свойств эфирных масел сосны сибирской и пихты сибирской, а также их отдельных фракций проводили диско-диффузионным методом [20].

В качестве тест-объектов использовали музейные культуры санитарно-показательных условно патогенных бактерий: *Klebsiella pneumonia* Т 904, *Escherichia coli* ATCC 39/21141, *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 и *Micrococcus luteus* ATCC 9341 (получены из Всероссийской

Гродницкая Ирина Дмитриевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией микробиологии и экологической биотехнологии, e-mail: izykova@sfu-kras.ru
Пашенова Наталья Вениаминовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии и экологической биотехнологии, e-mail: izykova@sfu-kras.ru

коллекции микроорганизмов ГИСК им. Тарасевича), а также выделенные из клинического материала сотрудниками клинико-диагностической лаборатории бактериологичекого отдела Красноярской межрайонной клинической больницы №20 имени И.С. Берзона: *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumanii, Candida albicans.*

Суточные культуры тестовых микроорганизмов, выращенные на скошенной среде Клиглера, были использованы для приготовления суспензий живых бактериальных клеток в стерильной воде (титр суспензий – $1–2\times10^8$ КОЕ/мл). Суспензиями засевали поверхность плотной питательной среды (агар Мюллера-Хинтон) в стандартных чашках Петри (диаметр 90 мм). В каждую чашку вносили по 100 мкл бактериальной суспензии, распределяя ее по поверхности среды стерильным шпателем. После засева на поверхность МПА помещали стерильные диски фильтровальной бумаги (диаметр 16 мм), на которые наносили (с помощью стерильных пипеток), фракции эфирных масел по 50 мкл/диск. Образцы эфирного масла сосны сибирской 1 и 4 фракций вносили по 10 мкл из-за их недостаточного количества. В контроле на бумажные диски наносили стерильную воду в количестве 50 мкл. В каждую чашку помещали по 3 диска. Засеянные чашки с дисками инкубировали в темноте при температуре 35 °С. Учет проводили по истечении 24 ч, отмечая зоны отсутствия роста бактерий вокруг дисков и измеряя ширину зон. Все варианты эксперимента выполнены в 6 повторностях.

Для проверки контаминации хвойных экстрактов посторонними микроорганизмами выполнен рассев эфирных масел на агар Мюллера-Хинтон. В каждую чашку Петри вносили по 100 мкл испытуемой фракции и растирали стерильным шпателем. Чашки инкубировали в течение 7 суток при 27 °С. Для каждой фракции эфирного масла посев выполнен в трех повторностях. Оценку эффективности воздействия эфирных масел на тестовые культуры проводили на основании расчета площади зоны отсутствия роста микроорганизмов вокруг бумажных дисков, на которые наносили масла. Статистическую обработку данных выполняли в программах Microsoft Excel 2007.

Для определения антирадикальной активности (АРА) полученных масел и их отдельных фракций использовали метод на основе реакции компонентов эфирного масла со стабильным свободным 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил радикалом (ДФПГ) (Sigma-Aldrich) [19]. Оптическую плотность измеряли на сканирующем спектрофотометре UV–1700 (Shimadzu, Япония) при длине волны 517 нм.

Для определения АРА были использованы две версии ДФПГ-теста: динамическая и статическая. Динамическая версия метода заключается в построении кривых зависимости % ингибирования радикалов ДФПГ от времени в течение 120 мин, на основании которых можно посчитать такой показатель как τ_{50} – время, необходимое для поглощения 50% радикалов ДФПГ. Статическая версия заключается в проведении измерения падения оптической плотности раствора ДФПГ через 30 мин от момента добавления к нему эфирного масла.

Реакцию проводили в кварцевых кюветах с плотно закрывающимися крышками (толщина кюветы 10 мм) при температуре 293±1 К путем приливания к 3 мл 2.0×10^{-4} М раствора ДФПГ в 96%-ном этаноле 20 мкл эфирного масла. В качестве контрольного образца использовали рабочий раствор ДФПГ. Антирадикальную активность (% ингибирования ДФПГ) определяли по формуле

$$\%\ ингибирования = \frac{D_{контр} - D_x}{D_{контр}} \cdot 100\%$$

где D_x – оптическая плотность исследуемого раствора, $D_{контр}$ – оптическая плотность контрольного раствора.

Каждое определение проводили в трех параллелях, причем различия в полученных значениях АРА составляли не более 0.5% от определяемой величины.

Результаты и обсуждение

Компонентный состав фракций исследуемых эфирных масел достаточно хорошо известен [4] и он меняется в зависимости от продолжительности процесса гидропародистилляции. Для сравнения в таблице 1 приведено содержание отдельных классов соединений в каждой из пяти полученных фракций исследуемых масел.

Из данных, приведенных в таблице 1, следует, что в первых трех фракциях эфирного масла *P. sibirica* и *A. sibirica*, произрастающих в Красноярском крае, превалируют монотерпены, в четвертой и пятой фракциях – сесквитерпены. Кроме того, в составе эфирного масла *A. sibirica* отмечено высокое содержание кислородсодержащих соединений, среди которых превалирует борнилацетат [4].

Таблица 1. Содержание отдельных классов соединений в отдельных фракциях и цельном эфирном масле *P. sibirica* и *A. sibirica*

Эфирное масло	Классы соединений	Количество, % от суммарного содержания компонентов масла					
		первая фракция	вторая фракция	третья фракция	четвертая фракция	пятая фракция	цельное масло
P. sibirica	Монотерпены	87.2	72.5	52.3	11.2	10.6	42.9
	Сесквитерпены	9.1	12.3	31.2	55.9	56.0	39.8
	Кислородсодержащие соединения	3.6	15.0	16.3	32.7	33.2	17.1
	ВСЕГО	99.9	99.8	99.8	99.8	99.8	99.8
A. sibirica	Монотерпены	41.8	39.2	29.1	17.3	16.3	39.6
	Сесквитерпены	1.6	2.0	10.5	22.0	30.1	10.0
	Кислородсодержащие соединения	56.5	58.7	60.2	60.5	53.5	50.2
	ВСЕГО	99.9	99.9	99.8	99.8	99.9	99.8

Для исследований на антимикробную активность были взяты первая и четвертая фракции эфирного масла *P. sibirica* (объем остальных фракций оказался недостаточным для эксперимента), а также с первой по пятую фракции эфирного масла *A. sibirica* (третья и четвертая фракции были объединены в одну ввиду их малого объема). Результаты испытаний на антимикробную активность представлены в таблицах 2 и 3.

Оценку эффективности воздействия эфирных масел на тестовые культуры проводили на основании расчета площади зоны отсутствия роста микроорганизмов вокруг бумажных дисков, на которые наносили масла. К эфирным маслам *P. sibirica* чувствительными оказались *K. pneumonia* и *S.aureus* (отсутствие роста (Р.О.) микроорганизмов свидетельствует о бактерицидном свойстве масла). Четвертая фракция обладала бактериостатическим воздействием на тестовые культуры (наблюдались зоны отсутствия роста), что, по-видимому, связано с уменьшением доли монотерпеновых углеводородов по мере выделения эфирного масла из древесной зелени (табл. 1) [13]. Именно с уменьшением количества монотерпенов связывают снижение антибактериальной активности эфирного масла ели сибирской от первой фракции к последней авторы работы [16].

Хочется отметить высокую чувствительность (площадь зоны отсутствия роста составила 1362 мм^2) к первой фракции сосны сибирской (10 мкл) *A.baumanii*, относящегося к ESKAPE-патогенам – группе бактерий с повышенной резистентностью к антибиотикам, которые ответственны за большинство больничных инфекций) [17].

Таблица 2. Площадь зон отсутствия роста тестовых культур микроорганизмов в присутствии эфирного масла *P. sibirica* (мм^2) (учет на первые сутки)

Номер фракции	Название тестовых культур							
	*Klebsiella pneumonia**	*Escherichia coli**	*Staphylococcus aureus**	*Micrococcus luteus**	*Escherichia coli***	*Pseudomonas aeruginosa***	*Acinetobacter baumanii***	*Candida albicans***
1	Р. О	1622±396	Р. О	1466±272	1666±251	0	1362±149	459±5
4	Р. О	505±104	1759±174	965±52	624±34	0	322±53	587±34

*музейная культура, **клинический изолят, Р.О. – рост отсутствует.

Таблица 3. Площадь зон отсутствия роста тестовых культур микроорганизмов в присутствии эфирного масла *A. sibirica* (мм^2) (учет на первые сутки)

Номер фракции	Название тестовых культур							
	*Klebsiella pneumonia**	*Escherichia coli**	*Staphylococcus aureus**	*Micrococcus luteus**	*Escherichia coli***	*Pseudomonas aeruginosa***	*Acinetobacter baumanii***	*Candida albicans***
1	800±89	367±89	Р. О.	Р. О	717±42	717±4	418±43	1541±193
2	1655±246	908±155	Р. О	1777±174	1595±253	82±67	438±142	1160±173
3 и 4	Р. О	0	Р. О	Р. О	0	0	0	0
5	1812±220	133±19	Р. О	Р. О	92±10	0	116±30	326±63

*музейная культура, **клинический изолят, Р.О. – рост отсутствует.

К эфирным маслам пихты сибирской чувствительными оказались *S.aureus, M.luteus* и *K. pneumonia* (табл. 3). Рост *S.aureus* полностью подавлялся всеми фракциями масла (бактерицидный эффект), *M.luteus* – фракциями 1 и 3–5. Фракции 3 и 4 обладали бактерицидными свойствами по отношению к *K. pneumonia*. По суммарным показателям более широким спектром антимикробной активности обладали фракции 1 и 2, угнетающие развитие не только бактериальных, но и дрожжевых клеток (*Candida albicans*). Фракция 2 обладала выраженным бактериостатическим эффектом (наблюдалась зона задержки роста микроорганизмов) по отношению к клиническому изоляту кишечной палочки с β-лактамазной устойчивостью.

Проверка фракций эфирных масел на изначальную обсемененность микроорганизмами показала низкое содержание контаминантов (микромицеты), численность которых не превышала 10 КОЕ/мл. Такой результат свидетельствует о высоких антимикробных свойствах масел, тем более что они были приготовлены без учета дополнительных условий асептики, обязательно выполняемых в фармакологическом производстве. Полученные результаты свидетельствуют о том, что зоны отсутствия роста условно-патогенных тестовых микроорганизмов обусловлены бактериостатическими свойствами практически всех фракций эфирных масел, а не антагонистическими взаимоотношениями между контаминантами и тест-объектами.

Следует отметить, что клинические штаммы *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* являлись продуцентами β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), обеспечивающих устойчивость этих бактерий к антибиотикам типа пенициллина и цефалоспорина.

Учитывая то, что АРА эфирных масел сложным образом связана с их составом, а также с концентрацией и соотношением наиболее активных компонентов, можно было ожидать, что отдельные фракции эфирного масла будут проявлять разные антирадикальные свойства.

Предварительные данные по антирадикальной активности, полученные динамическим методом для цельных (не поделенных на фракции) масел, показали, что эфирные масла *P. sibirica* и *A. sibirica* за выбранный промежуток времени (120 мин) не достигают 50%-ного ингибирования радикала ДФПГ (рис. 1). В результате статических испытаний измерения были проведены через 30 мин от момента приливания к 3 мл 2.0×10^{-4} М раствора ДФПГ в этаноле 20 мкл эфирного масла. Результаты ДФПГ-теста, представленные на рисунке 2, показали, что все исследуемые образцы эфирного масла проявляют АРА, значения которой возрастают при переходе от первой фракции к последней, оставаясь при этом ниже 18%. Согласно [21, 22], исследуемые образцы эфирных масел могут быть отнесены к так называемым медленным антирадикальным агентам, так как при изученной концентрации время, за которое наблюдается 50%-ное восстановление радикала ДФПГ, превышало 30 мин.

Ранее в ряде работ было показано, что антирадикальными свойствами в эфирных маслах обладают фенольные соединения: тимол, фенол, карвакрол [10–12]. Отмечена антирадикальная активность цитронеллаля, нераля и гераниаля. Установлено, что активными донорами протонов по отношению к ДФПГ являются сабинен, α- и γ-терпинены и α-терпинолен [13]. Все перечисленные выше компоненты, кроме α- и γ-терпиненов и α-терпинолена, отсутствовали в составе исследуемых эфирных масел. Кроме того, суммарное содержание этих компонентов в отдельных фракциях эфирных масел *P. sibirica* и *A. sibirica* не коррелировало с АРА. Возможно, кроме этих компонентов в масле присутствуют компоненты, об активности которых ничего не известно (в частности, активность борнилацетата). Либо мы имеем дело с сильным синергетическим влиянием компонентов на АРА эфирного масла.

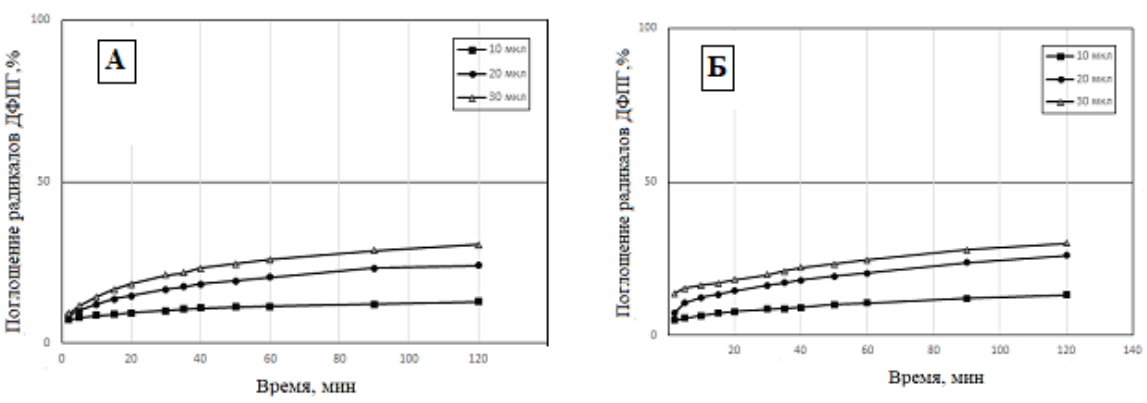

Рис. 1. Степень ингибирования радикала дифенилпикрилгидразила в зависимости от объема добавленного эфирного масла *P. sibirica* (А) и *A. sibirica* (Б) в течение 120 мин

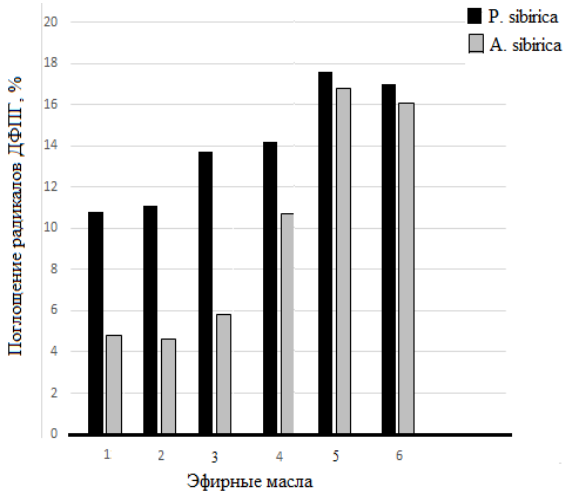

Рис. 2. Антирадикальная активность эфирных масел *P. sibirica* и *A. sibirica* (1–5 – номера фракций эфирных масел, 6 – цельные эфирные масла)

Пока только можно предположить, что нарастание АРА от первой фракции к последней связано с накоплением в последней фракции большого количества сесквитерпенов и кислородсодержащих соединений (табл. 1). Значения АРА всех выделенных фракций эфирного масла *P. sibirica* (от 10.8 до 17.6% у первой и последней фракции соответственно) несколько выше АРА фракций эфирного масла *A. sibirica* (от 4.8 до 16.8% у первой и последней фракции соответственно), хотя АРА цельных эфирных масел *P. sibirica* и *A. sibirica* практически одинакова (17.0 и 16.1% соответственно). Раствор аскорбиновой кислоты, взятой в эквивалентной концентрации по отношению к эфирному маслу, за 30 мин полностью ингибирует ДФПГ.

Выводы

Выполненные исследования показали, что на все тестовые микроорганизмы, кроме *P. aeruginosa*, эфирные масла *P. sibirica* и *A. sibirica*, произрастающих в сибирском регионе, оказывали бактерицидное либо бактериостатическое действие. Чувствительность тест-культур варьировала в зависимости от их вида и фракции эфирных масел. Отмечено, что в основном чувствительность взятых в эксперимент штаммов к компонентам эфирных масел *P. sibirica* и *A. sibirica* при переходе от первой к последней фракции ослабевает. Предполагаем, что, по-видимому, это связано с уменьшением в составе масел количества монотерпенов.

Установлена АРА как цельных эфирных масел *P. sibirica* и *A. sibirica* (17.0 и 16.1% соответственно), так и их отдельных фракций, причем значения АРА возрастают при уменьшении количества монотерпенов в их составе. Отмечено, что значения АРА исследуемых хвойных растений намного меньше, чем АРА известного антиоксиданта – аскорбиновой кислоты.

Показана возможность варьирования антимикробных и антирадикальных свойств эфирных масел путем фракционирования его в зависимости от продолжительности выделения. Полученные результаты указывают на перспективность исследований в данном направлении по разработке антибиотических препаратов на основе эфирных масел пихты сибирской и сосны сибирской.

Список литературы

1. Исаев А.С. Лесной комплекс в составе производительных сил Сибири // Материалы Всесоюзной конференции «Развитие производительных сил Сибири и задачи ускорения научно-технического прогресса». Красноярск, 1985. С. 6–22.
2. Ефремов Е.А., Ефремов А.А. Компонентный состав эфирного масла июльской лапки пихты сибирской Красноярского края // Химия растительного сырья. 2010. №2. С. 135–138.
3. Ефремов Е.А., Назиров Р.А., Ефремов А.А. Влияние экологического состояния территории на содержание и компонентный состав эфирного масла пихты сибирской // Вестник КрасГАУ. 2014. №12. С. 89–93.
4. Ефремов А.А., Зыкова И.Д. Компонентный состав эфирных масел хвойных растений Сибири. Красноярск, 2013. 133 с.
5. Ефремов А.А., Струкова Е.Г., Нарчуганов А.Н. Компонентный состав эфирного масла лапки хвойных Сибирского региона по данных хромато-масс-спектрометрии // Journal of Siberian Federal University. Chemistry. 2009. №4. С. 335–350.
6. Самсонова Н.А., Гусакова М.А., Боголицин К.Г., Селиванова Н.В. Компонентный состав и антибактериальная активность эфирного масла древесной зелени Juniperus communis L. субарктической зоны России // Сибирский лесной журнал. 2020. №2. С. 31–39.
7. Боголицин К.Г., Гусакова М.А., Красикова А.А., Самсонова Н.А. Компонентный состав и антибактериальная активность эфирного масла древесной зелени Juniperus communis L., произрастающего на территории европейского севера России // Сборник материалов докладов Международной научно-технической конференции «Химия и химическая технология переработки растительного сырья». Минск, 2018. С. 70–74.

8. Ochocka J.R., Asztemborska M., Sybilska D., Langa W. Determination of enantiomers of terpenic hydrocarbons in essential oils obtained from species of Pinus and Abies // Pharmaceutical Biology. 2002. Vol. 40. N5. Pp. 395–399.
9. Савельева Е.Е., Ефремов А.А. Антиоксидантная активность эфирных масел некоторых дикорастущих растений Сибири // Вестник КрасГАУ. 2017. №2. С. 141–147.
10. Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Фаткуллина А.К., Воробьева Л.Д., Медведева И.Б., Бурлакова Е.Б. Влияние состава смесей эфирных масел на их антиоксидантные и антирадикальные свойства // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48. №1. С. 117–123.
11. Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Медведева И.Б. Антирадикальные свойства эфирных масел и экстрактов гвоздики и душистого перца // Прикладная биохимия и микробиология. 2015. Т. 51. №1. С. 99–104.
12. Алинкина Е.С., Мишарина Т.А., Фаткуллина А.К. Антирадикальные свойства эфирных масел орегано, тимьяна и чабера // Прикладная химия и микробиология. 2013. Т. 49. №1. С. 82–87. DOI: 10.7868/S0555109913010029.
13. Ruberto G., Baratta M.T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems // Food Chemistry. 2000. Vol. 69. N2. Pp. 167–174.
14. Яшин Я.И., Рыжнев В.Ю., Яшин Ф.Я., Черноусова Н.И. Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и их влияние на здоровье и старение человека. М., 2009. 192 с.
15. Водолазова С.В., Мяделец М.А., Карпова М.Р. Антимикробная активность эфирных масел и водных извлечений из лекарственных растений Хакасии // Сибирский медицинский журнал. 2011. Т. 26. №2. С. 54–58.
16. Гуляев Д.К., Новикова В.В., Белоногова В.Д. Антибактериальная и противогрибковая активность эфирного масла древесной зелени ели обыкновенной и его отдельных фракций // Медицинский альманах. 2015. №4 (39). С. 231–214.
17. Van Duijn P.J., Dautzenberg M.J., Oostdijk E.A. Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs // Curr. Opin. Crit Care. 2011. Vol. 17. Pp. 658–665.
18. Cushnie T.P., Lamb A.J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids // Int. J. Antimicrob. Agents. 2011. Vol. 38. Pp. 99–107.
19. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenilpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity // Songklanakarin J. Sci.Technol. 2004. Vol. 26. N2. Pp. 211–219.
20. МУК 4.12.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания. М., 2004. 91 с.
21. Baratta M.T., Dorman H.J.D., Deans S.G., Figueredo A.C., Barosso J.G., Ruberto G. Chemical and Biological Comparative in Vitro Studies of Cinnamon Bark and Lemon Peel Essential Oils // Flavour Fragrance Journal. 1998. Vol. 13. N4. Pp. 235–244.
22. Foti M.C., Ruberto G. Kinetic solvent effects on phenolic antioxidants determined by spectrophotometric measurements // Journal Agricultural Food Chem. 2001. Vol. 49. N1. Pp. 342–348.

Поступила в редакцию 17 марта 2020 г.

После переработки 28 мая 2020 г.

Принята к публикации 7 сентября 2020 г.

Для цитирования: Ефремов А.А., Зыкова И.Д., Сенашова В.А., Гродницкая И.Д., Пашенова Н.В. Антимикробная и антирадикальная активность отдельных фракций *Pinus sibirica* Du Tour и *Abies sibirica* Ledeb., произрастающих в Сибирском регионе // Химия растительного сырья. 2020. №4. С. 203–210. DOI: 10.14258/jcprm.2020047505.

Efremov A.A.[1,2], Zykova I.D.[1], Senashova V.A.[3], Grodnickaya I.D.[3], Pashenova N.V.[3]* ANTIMICROBIAL AND ANTIRADICAL ACTIVITY OF INDIVIDUAL FRACTIONS OF *PINUS SIBIRICA* DU TOUR AND *ABIES SIBIRICA* LEDEB., NATIVE TO THE SIBERIAN REGION

[1] Siberian Federal University, Svobodny pr., 79, Krasnoyarsk, 660049 (Russia), e-mail: izykova@sfu-kras.ru
[2] Special design and technology Bureau "Nauka " of the Federal research center of KNC SB RAS, Akademgorodok, 50, p. 45, Krasnoyarsk, 660036 (Russia)
[3] Institute of forest. V. N. Sukacheva Federal research center KNC SB RAS, Akademgorodok, 50, p. 28, Krasnoyarsk, 660036 (Russia)

By the method of exhaustive hydroparodistillation, essential oil was obtained from Siberian pine (*Pinus sibirica* Du Tour) and Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.), growing on the territory of the Krasnoyarsk territory. Separate fractions of oil were obtained: the first one after 45 min from the beginning of distillation, the second – after 2 hours, the third – after 5 hours, the fourth-after 10 hours, the fifth fraction was collected after the end of hydrodistillation. The antimicrobial activity of separate fractions of essential

* Corresponding author.

oil of *P. sibirica* and *A. sibirica* was studied against strains of opportunistic microorganisms: *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus 209p, Micrococcus luteus, Acinetobacter baumanii, Candida albicans*. The performed studies showed that all the studied samples of essential oils showed either bactericidal or bacteriostatic activity against the strains of microorganisms taken in the experiment, except *Pseudomonas aeruginosa*. The type of activity displayed depended on the type of strain and sample of essential oil. It is noted that the sensitivity of the experimental strains to the components of the essential oils of *P. sibirica* and *A. sibirica* decreases during the transition from the first to the last fraction. We assume that, apparently, this is due to a decrease in the number of monoterpenes in the composition of oils.To study the antiradical activity, the reaction of essential oil components with a stable free 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical was used. Antiradical activity of both whole essential oils of P. sibirica and A. sibirica and their separate fractions was established. There was an increase in antiradical activity with a decrease in the content of monoterpenes in the composition of essential oil.

Keywords: Siberian pine (*Pinus sibirica* Du Tour), Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.), essential oil, antimicrobial activity, antiradical activity, 2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl.

References

1. Isayev A.S. *Materialy Vsesoyuznoy konferentsii «Razvitiye proizvoditel'nykh sil Sibiri i zadachi uskoreniya nauchno-tekhnicheskogo progressa»*. [Proceedings of the All-Union conference "Development of the productive forces of Siberia and the task of accelerating scientific and technological progress"]. Krasnoyarsk, 1985, pp. 6–22. (in Russ.).
2. Yefremov Ye.A., Yefremov A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2010, no. 2, pp. 135–138. (in Russ.).
3. Yefremov Ye.A., Nazirov R.A., Yefremov A.A. *Vestnik KrasGAU*, 2014, no. 12, pp. 89–93. (in Russ.).
4. Yefremov A.A., Zykova I.D. *Komponentnyy sostav efirnykh masel khvoynykh rasteniy Sibiri*. [Component composition of essential oils of Siberian coniferous plants]. Krasnoyarsk, 2013, 133 p. (in Russ.).
5. Yefremov A.A., Strukova Ye.G., Narchuganov A.N. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2009, no. 4, pp. 335–350. (in Russ.).
6. Samsonova N.A., Gusakova M.A., Bogolitsin K.G., Selivanova N.V. *Sibirskiy lesnoy zhurnal*, 2020, no. 2, pp. 31–39. (in Russ.).
7. Bogolitsin K.G., Gusakova M.A., Krasikova A.A., Samsonova N.A. *Sbornik materialov dokladov Mezhdunarodnoy nauchno-tekhnicheskoy konferentsii «Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya pererabotki rastitel'nogo syr'ya»*. [Collection of reports of the International Scientific and Technical Conference "Chemistry and Chemical Technology of Processing Plant Raw Materials"]. Minsk, 2018, pp. 70–74. (in Russ.).
8. Ochocka J.R., Asztemborska M., Sybilska D., Langa W. *Pharmaceutical Biology*, 2002, vol. 40, no. 5, pp. 395–399.
9. Savel'yeva Ye.Ye., Yefremov A.A. *Vestnik KrasGAU*, 2017, no. 2, pp. 141–147. (in Russ.).
10. Misharina T.A., Alinkina Ye.S., Fatkullina A.K., Vorob'yeva L.D., Medvedeva I.B., Burlakova Ye.B. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2012, vol. 48, no. 1, pp. 117–123. (in Russ.).
11. Misharina T.A., Alinkina Ye.S., Medvedeva I.B. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2015, vol. 51, no. 1, pp. 99–104. (in Russ.).
12. Alinkina Ye.S., Misharina T.A., Fatkullina A.K. *Prikladnaya khimiya i mikrobiologiya*, 2013, vol. 49, no. 1, pp. 82–87. DOI: 10.7868/S0555109913010029 (in Russ.).
13. Ruberto G., Baratta M.T. *Food Chemistry*, 2000, vol. 69, no. 2, pp. 167–174.
14. Yashin Ya.I., Ryzhnev V.Yu., Yashin F.Ya., Chernousova N.I. *Prirodnyye antioksidanty. Soderzhaniye v pishchevykh produktakh i ikh vliyaniye na zdorov'ye, i stareniye cheloveka*. [Natural antioxidants. Content in foods and their effects on human health and aging]. Moscow, 2009, 192 p. (in Russ.).
15. Vodolazova S.V., Myadelets M.A., Karpova M.R. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, 2011, vol. 26, no. 2, pp. 54–58. (in Russ.).
16. Gulyayev D.K., Novikova V.V., Belonogova V.D. *Meditsinskiy al'manakh*, 2015, no. 4 (39), pp. 231–214. (in Russ.).
17. Van Duijn P.J., Dautzenberg M.J., Oostdijk E.A. *Curr. Opin. Crit Care*., 2011, vol. 17, pp. 658–665.
18. Cushnie T.P., Lamb A.J. *Int. J. Antimicrob. Agents*., 2011, vol. 38, pp. 99–107.
19. Molyneux P. *Songklanakarin J. Sci.Technol*., 2004, vol. 26, no. 2, pp. 211–219.
20. *MUK 4.12.1890-04. Opredeleniye chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam: me-todicheskiye ukazaniya*. [MUK 4.12.1890-04. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: methodological instructions]. Moscow, 2004, 91 p. (in Russ.).
21. Baratta M.T., Dorman H.J.D., Deans S.G., Figueredo A.C., Barosso J.G., Ruberto G. *Flavour Fragrance Journal*, 1998, vol. 13, no. 4, pp. 235–244.
22. Foti M.C., Ruberto G. *Journal Agricultural Food Chem*., 2001, vol. 49, no. 1, pp. 342–348.

Received March 17, 2020

Revised May 28, 2020

Accepted September 7, 2020

For citing: Efremov A.A., Zykova I.D., Senashova V.A., Grodnickaya I.D., Pashenova N.V. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 203–210. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020047505.