

УДК 615.322;543.95

ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВЫДЕЛЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ И ЭКСТРАКТА КОРНЯ *GLYCYRRHIZA GLABRA* L.

© *О.В. Астафьева**, *Л.Т. Сухенко*, *М.А. Егоров*

Астраханский государственный университет, пл. Шаумяна, 1, Астрахань, 41400 (Россия), e-mail: astra39@list.ru

Изучена противомикробная активность выделенных в виде фракций биологически активных веществ корня *Glycyrrhiza glabra* L., произрастающей в Астраханском регионе. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) получен качественный и количественный состав фракций и экстракта корня *Glycyrrhiza glabra* L. по содержанию глицирризина и 18β-глицирретовой кислоты.

Ключевые слова: солодка голая, *Glycyrrhiza glabra* L., глицирризин, 18β-глицирретовая кислота, противомикробная активность, ВЭЖХ.

Введение

Солодка голая *Glycyrrhiza glabra* L. (семейство Fabaceae) – широко известное лекарственное растение, произрастающее в разных частях мира (Россия, Турция, Египет, Италия, Испания, Китай, Казахстан, Узбекистан и др.). Солодка голая используется в пищевой, косметической промышленности, в фармакологии и медицине при лечении заболеваний дыхательной системы, язвы желудка, болезни Аддисона, заболеваний печени и др. [1,2]. Глицирризиновая кислота, или глицирризин – один из основных биологически активных компонентов корня *Glycyrrhiza glabra*. Обнаружена противовирусная активность глицирризина и 18β-глицирретовой кислоты по отношению к вирусу ВИЧ-1 [3]. Хорошо изучены противомикробные и антиоксидантные свойства компонентов корня солодки голой [1–7].

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили экстракт 50% спиртового раствора корня *Glycyrrhiza glabra*, произрастающей в Астраханском регионе и выделенные из него фракции.

Противомикробную активность исследовали на непатогенных тест-микроорганизмах *Staphylococcus aureus* ВКПМ В-1899, *Escherichia coli* СК ВКПМ В-1911 и *Bacillus subtilis* ВКПМ В-1919, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИ генетики.

Корни *Glycyrrhiza glabra* подвергали экстрагированию 50% этиловым спиртом в соотношении 1 : 5. Смесь в емкости из темного стекла оставляли на 7 суток при постоянном перемешивании. Полученные извлечения фильтровали, а затем стерилизовали и выпаривали спирт в суховоздушном стерилизаторе при температуре 85 °С.

Фракции получали в результате колоночной жидкостной хроматографии. Элюирование биологически

Астафьева Оксана Витальевна – старший научный сотрудник лаборатории биотехнологий, тел.: (8512) 52-49-95, факс: (8512) 52-82-64, e-mail: astra39@list.ru

Сухенко Людмила Тимофеевна – доцент кафедры биотехнологии и биоэкологии, кандидат биологических наук, тел.: (8512) 52-49-95, факс: (8512) 52-82-64, e-mail: sukhenko@list.ru

Егоров Михаил Алексеевич – заведующий кафедрой биотехнологии и биоэкологии, заведующий лабораторией биотехнологий, доктор биологических наук, профессор, тел. (8512) 52-49-95, факс: (8512) 52-82-64, e-mail: egorovs.mail@gmail.com

ски активных веществ *Glycyrrhiza glabra* проводили 1% спиртовым раствором (90% этанол) аммиака в колонке ($h=25$ см, $d=2,5$ см); выделили 5 фракций.

Исследования полученных фракций экстракта корня *Glycyrrhiza glabra* проводили на жидкостном хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, Вальдброн, Германия), соединенным с масс-спектрометром API 4000 (Applied Biosystem/MDS SCIEX, Конкорд, Онтарио, Канада) и снабженном колонкой Agilent ZORBAX 3,5 μm Extend-C18 80Å

* Автор, с которым следует вести переписку.

4,6×150 мм (Agilent Technologies, Вальдброн, Германия). В качестве подвижной фазы использовали смесь метанола и 0,05% раствора муравьиной кислоты. Детектирование осуществляли при длинах волн: 254 нм, 280 нм, 275 нм, 330 нм и 350 нм. В процессе хроматографирования состав смеси изменялся от 0 до 100%. Скорость потока составляла 0,5 мл/мин, объем вводимой пробы – 10 мкл. На первом этапе были проведены наблюдения за хроматографическим поведением стандартных образцов глицирризиновой кислоты и 18β-глицирретеновой кислоты (Sigma-Aldrich).

Противомикробную активность определяли методом диффузии в агаровую среду, засеянную микроорганизмами с определением диаметров зон задержки роста (ДЗЗР) микробов вокруг фракций и методом серийных разведений, как описано ранее [8].

Обсуждение результатов

В таблице 1 представлен качественный и количественный состав исследуемых фракций экстракта корня *Glycyrrhiza glabra* по содержанию основных компонентов – глицирризиновой кислоты и 18β-глицирретеновой кислоты.

Результаты, представленные в таблице 1, показывают, что наибольшая концентрация глицирризиновой кислоты была обнаружена во фракции Е5, но в целом по содержанию данного вещества между фракциями Е3, Е4 и Е5 нет значительных различий. 18β-глицирретеновая кислота присутствовала на уровне предела обнаружения в большинстве исследуемых фракций.

Результаты исследования противомикробной активности фракций 50% спиртового экстракта корня *Glycyrrhiza glabra* представлены в таблице 2.

Исследовали противомикробное действие фракций экстракта корня солодки голой, полученных в результате препаративной колоночной хроматографии.

Как видно из таблицы 2, противомикробное действие по отношению к культуре *S. aureus* было обнаружено у фракций Е4 и Е5, концентрация глицирризина и 18β-глицирретеновой кислоты в которых наибольшая, по сравнению с другими исследуемыми фракциями. Причем фракция Е4 проявила противомикробное действие по отношению ко всем трем тест-культурам (*St. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*). Фракции Е3 и Е2 показали одинаковое противомикробное действие по отношению к непатогенным штаммам *E. coli* и *B. subtilis*. Но минимальная ингибирующая концентрация (МИК) фракции Е2 выражена более по отношению к *E. coli* (250 мкг/мл), а у Е3 – по отношению к *B. subtilis* (500 мкг/л) (табл. 2). Концентрация глицирризиновой кислоты и 18β-глицирретеновой кислоты во фракции Е3 наибольшая (табл. 1). Как видно, в представленных исследованиях, противомикробное действие по отношению к тест-культурам непатогенных штаммов *S. aureus*, *E. coli* и *B. subtilis* проявлялось с увеличением концентрации глицирризиновой и глицирретеновой кислот в экстрактах *Glycyrrhiza glabra*.

Таблица 1. Количественное содержание глицирризиновой кислоты и 18β-глицирретеновой кислоты во фракциях 50% спиртового экстракта корня *Glycyrrhiza glabra*

Фракции	Концентрация соединений (мг) в сухом веществе (г)		Массовая доля соединений на сухой вес образца, %	
	глицирризиновая кислота	18β-глицирретеновая кислота (диапазон)*	глицирризиновая кислота	18β-глицирретеновая кислота
Е1	3,4	4·10 ⁻⁴ –1·10 ⁻³ *	0,34	–
Е2	2,5	1·10 ⁻³ –3·10 ⁻³	0,25	–
Е3	4,7	9·10 ⁻⁴ –1·10 ⁻³	0,47	–
Е4	4,6	5·10 ⁻⁴ –2·10 ⁻³	0,46	–
Е5	5,2	1·10 ⁻³ –4·10 ⁻³	0,52	–
экстракт	516	1·10 ⁻⁴ –4·10 ⁻⁴	51,6	–

* Диапазон определения содержания 18β-глицирретеновой кислоты

Таблица 2. Противомикробное действие экстракта корня *Glycyrrhiza glabra* и выделенных из него фракций

Фракции	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
	ДЗЗР ¹ , мм			МИК ² , мкг/мл		
Е1	0	0	0	0	0	0
Е2	16,0±3,4	0	6,5±3,1	62,5±9,5	0	1000,0±0,0
Е3	14,5±2,3	0	6,6±2,8	125±19,4	0	62,5±13,9*
Е4	15,8±0,7*	6,7±1,2	12,1±1,3	62,5±11,3	62,5±8,9	1000,0±0,0
Е5	0	8,3±0,9	0	0	250±21,3	0
Экстракт	14,1±3,6	11,5±2,3	10,5±6,8	0	0	0

Примечания. ¹ДЗЗР (M±m) – диаметры зоны задержки роста микроорганизмов, мм; ²МИК (M±m) – минимальные ингибирующие концентрации, мкг/мл; 0 – отсутствие противомикробного действия; * различия с контролем достоверны при p≤0,05

Выводы

Установлено, что экстракт корня солодки голой, произрастающей в Астраханской области, проявляет противомикробную активность ко всем трем непатогенным штаммам *E.coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*. Выделенные фракции, содержащие повышенные концентрации глицирризиновой и 18 β -глицирретовой кислот, обладали выраженным противомикробным действием. Возможно, более сильное противомикробное действие некоторых фракций и самого 50% спиртового экстракта обусловлено содержанием некоторых других групп химических компонентов, таких как флавоноидов, сопровождающих фракции производных глицирризиновой кислоты *Glycyrrhiza glabra*.

Список литературы

1. Nassiri M., Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds // *Phytotherapy Reserch*. 2008. N22. Pp. 709–724.
2. Statti G.A., Tundis R., Sacchetti G., Muzzoli M., Bianchi A., Menichini F. Variability in the content of active constituents and biological activity of *Glycyrrhiza glabra* // *Fitoterapia*. 2004. Vol. 75. Pp. 371–374.
3. Плясунова О.А., Егорычева И.П., Федюк Н.В., Покровский А.Г., Балтина Л.А., Муринов Ю.И., Толстикова Г.А. Изучение анти-ВИЧ-активности β -глицирризиновой кислот // *Вопросы вирусологии*. 1992. №5. С. 235–237.
4. Fukai T., Marumo A., Kaitou K., Kanda T., Terada S., Nomura T. Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // *Fitoterapia*. 2002. N73. Pp. 536–539.
5. Gupta V.K., Fatima A., Faridi A., Negi A.S., Shanker K., Kumar J.K., Rahuja N., Luqman S., Sisodia B.S., Saikia D., Darokar M.P., Khanuja P.S. Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots // *Journal of ethnopharmacology*. 2008. N116. Pp. 377–380.
6. Sukhenko L. The activity increase of the peritoneal macrophages of the mice, infected with *M. tuberculosis* H37Rv, treated with the preparation «GLYCYRIFIT» from *Glycyrrhiza glabra*. Praha, Publishing House «Education and Science». 2011. Pp. 53–56.
7. Sukhenko L.T., Egorov M.A. Activity increase of peritoneal macrophages in mice infected with *M. tuberculosis* H37Rv, treated with preparation from *Glycyrrhiza glabra* root // 4th Congress of European Microbiologists FEMS. Geneva, 2011. 251 p.
8. Tyrkov A.G., Sukhenko L.T. Synthesis and antimicrobial activity ω -substituted nitro-1,2,4-oxadiazole-5-carbaldehydrazones // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2004. Vol. 38, N7. Pp. 376–378.

Поступило в редакцию 22 ноября 2012 г.

Astafyeva O.V.*, Sukhenko L.T., Egorov M.A. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF EXTRACTED BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES AND EXTRACTS OF ROOTS OF *GLYCYRRHIZA GLABRA* L.

Astrakhan state University, pl. Shaumiana 1, 414000 (Russia), e-mail: astra39@list.ru

We studied antibacterial activity of extracted biologically active substances in the form of fractions *Glycyrrhiza glabra* L., cultivated/grown in the Astrakhan region. We used the method of high performance liquid chromatography (HPLC) and obtained qualitative and quantitative compound of glycyrrhizin and 18 β - glycyrrhetic acid in fractions and extracts of root of *Glycyrrhiza glabra* L.

Keywords: licorice, *Glycyrrhiza glabra* L., glycyrrhizin, 18 β -glycyrrhetic acid, antibacterial activity, HPLC.

References

1. Nassiri M., Hosseinzadeh H. *Phytotherapy Reserch*, 2008, no. 22, pp. 709–724.
2. Statti G.A., Tundis R., Sacchetti G., Muzzoli M., Bianchi A., Menichini F. *Fitoterapia*, 2004, vol. 75, pp. 371–374.
3. Pliasonova O.A., Egoricheva I.P., Fediuk N.V., Pokrovskii A.G., Baltina L.A., Murinov Iu.I., Tolstikov G.A. *Voprosy virusologii*, 1992, no. 5, pp. 235–237. (in Russ.).
4. Fukai T., Marumo A., Kaitou K., Kanda T., Terada S., Nomura T. *Fitoterapia*, 2002, no. 73, pp. 536–539.
5. Gupta V.K., Fatima A., Faridi A., Negi A.S., Shanker K., Kumar J.K., Rahuja N., Luqman S., Sisodia B.S., Saikia D., Darokar M.P., Khanuja P.S. *Journal of ethnopharmacology*, 2008, no. 116, pp. 377–380.
6. Sukhenko L. The activity increase of the peritoneal macrophages of the mice, infected with *M. tuberculosis* H37Rv, treated with the preparation «GLYCYRIFIT» from *Glycyrrhiza glabra*. Praha, Publishing House «Education and Science». 2011. Pp. 53–56.
7. Sukhenko L.T., Egorov M.A. 4th Congress of European Microbiologists FEMS. Geneva, 2011. 251 p.
8. Tyrkov A.G., Sukhenko L.T. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2004, vol. 38, no. 7, pp. 376–378.

Received November 22, 2012

* Corresponding author.

