

Низкомолекулярные соединения

УДК 615.322:615.076.7:615.017

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ ПОЧЕК ТОПОЛЯ И ПРОПОЛИСА В ОТНОШЕНИИ ШТАММОВ ПОСТКОВИДНЫХ ИНФЕКЦИЙ COVID-19

© Е.А. Урбанчик, В.А. Куркин*, В.М. Рыжов, А.В. Лямин, А.В. Козлов, А.С. Цибина

Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская,
89, Самара, 443099, Россия, v.a.kurkin@samsmu.ru

Новая коронавирусная инфекция в настоящее время все еще остается важной проблемой человечества, а также мирового медицинского сообщества. Вирус COVID-19 опасен тем, что вызывает прямое повреждение эпителия дыхательных путей, тем самым способствует проникновению бактерий и грибов в ткани организма. Инвазивные микозы являются тяжелым осложнением и причиной высокого процента летального исхода госпитализированных пациентов. Основными штаммами коинфекций при COVID-19 являются: *Aspergillus*, *Mucorales* и *Candida*. Особенно остро стоит вопрос лечения и возможности профилактики возникновения вторичных микозов при коронавирусной инфекции. Целью работы являлось определение противогрибковой активности почек тополя (*Populus L.*) и прополиса, обладающих фунгицидной активностью в отношении штаммов грибов, выделенных от пациентов с новой коронавирусной инфекцией. В работе отражены результаты исследования фунгицидной активности исследуемых образцов извлечений почек т. черного и т. краснодеревного (70 и 96% этиловый спирт) в отношении клинических штаммов *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Mucor spp.*, препаратором сравнения являлись: настойка прополиса и спиртовой раствор стандартного образца (СО) пиностробина. Отмечена наибольшая активность извлечений из почек т. краснодеревного в отношении *A. fumigatus* (содержание действующих веществ в 96% извлечении – 0.0022%), *A. flavus* (в 70% извлечении – 0.0019%), *A. niger* (в 70% извлечении – 0.0019%), *Scopulariopsis brevicaulis* (в 70% извлечении – 0.0009%). Настойка прополиса проявила наименьшую фунгицидную активность, отмечена активность в отношении штаммов *A. niger* и *Scopulariopsis brevicaulis*. Препаратор сравнения – спиртовой раствор СО пиностробина проявил противогрибковую активность в отношении штамма *A. niger*. В отношении *Mucor spp.* исследуемые извлечения почек тополя и препараты сравнения не проявили выраженной фунгицидной активности. Наличие фунгицидной активности в отношении штаммов постковидных грибов извлечений на основе почек тополя предположительно связана с наличием суммы фенольных соединений – флавоноидов и фенилпропаноидов.

Ключевые слова: новая коронавирусная инфекция, COVID-19, фунгицидная активность, тополь черный, *Populus nigra L.*, тополь краснодеревный, *Populus rubrinervis* Hort. Alb., прополис, флавоноиды.

Для цитирования: Урбанчик Е.А., Куркин В.А., Рыжов В.М., Лямин А.В., Козлов А.В., Цибина А.С. Определение противогрибковой активности почек тополя и прополиса в отношении штаммов постковидных инфекций COVID-19 // Химия растительного сырья. 2024. №4. С. 125–137. DOI: 10.14258/jcprm.20240414056.

Введение

Пандемия новой коронавирусной инфекции (COVID-19) потрясла весь мир в 2020 году и до сих пор является актуальной проблемой для всего человечества. Всего на сегодняшний момент зарегистрировано более 770 млн случаев заболевания и 6.9 млн смертельных исходов (<https://covid19.who.int/>) [1]. Известно, что коронавирус вызывает респираторные заболевания и пневмонию, что в дальнейшем может привести к дыхательной недостаточности, тяжелому течению заболевания и лечению пациентов только в условиях отделения интенсивной терапии, а также развитию иммуносупрессии и вторичных осложнений в виде инвазивных микозов и бактериального сепсиса, сердечно-сосудистых и респираторных заболеваний, особенно у пожилых людей и людей с сопутствующими заболеваниями (сердечно-сосудистые заболевания, хронические респираторные заболевания, диабет, рак) [2, 3].

Респираторные вирусы – гриппа, новой коронавирусной инфекции – вызывают прямое повреждение эпителия дыхательных путей, альвеолярного пространства, позволяя возбудителям микозов проникать в

* Автор, с которым следует вести переписку.

ткани [3]. Инвазивные микозы инфекции являются серьезным тяжелым осложнением у значительного числа госпитализированных пациентов в критическом состоянии с диагнозом COVID-19 с высоким процентом летальности. В основном коинфекции при COVID-19 вызывают три рода грибов: *Aspergillus*, *Mucorales* и *Candida* [2, 4]. За время пандемии обнаружен рост числа штаммов грибов, выделенных при исследовании мокроты больных новой коронавирусной инфекцией, при этом грибы составляют 1/3 от общей доли микроорганизмов [2]. При оценке аспергиллеза легких, ассоциированного с COVID-19 (САРА), было выявлено, что более 40% пациентов умерли от потенциально опасной вторичной инфекции, вызываемой штаммами *Aspergillus* spp., особенно страдали пациенты, получающие системные кортикостероиды и тоцилизумаб [4, 5]. Пандемия COVID-19 привела к резкому увеличению числа пациентов с гипергликемией и кетоацидозом из-за лечения кортикостероидами при COVID-19, что послужило созданию благоприятной среды для роста грибов порядка *Mucorales*, ассоциированного с COVID-19 (САМ), также известного как «черный грибок» в организме человека и стало причиной летального исхода, явившегося угрозой для всего мира, особенно в Индии [6]. Значительному числу пациентов с COVID-19 требуется длительное пребывание в отделении интенсивной терапии, искусственная вентиляция легких, назначение антибиотиков широкого спектра действия и системных стероидов, центральных катетеров, а сопутствующее наличие сахарного диабета, заболеваний почек предрасполагает к инфекциям, вызванным *Candida* spp. *Candida albicans* является наиболее часто встречающимся видом дрожжей у пациентов с COVID-19 в критическом состоянии, но в некоторых районах преобладал новый патоген – *Candida auris* [4, 7]. В литературе также появляются сообщения о сочетанной инфекции аспергиллеза и мукормикоза, характеризующейся поражением носа, придаточных пазух носа, орбиты и головного мозга [8].

Особенно острым стоит вопрос о медикаментозном и альтернативном лечении, а также возможности профилактики при возникновении вторичных инфекций, вызванных грибами при коронавирусной инфекции [9]. Диагностика аспергиллеза и мукормикоза, связанных с COVID-19, сложна, в том числе из-за опасения передачи SARS-CoV-2, и часто неразличима во время цитокинового шторма при новой коронавирусной инфекции, что затрудняет оказание своевременного лечения вторичной инфекции, вызванной грибами [9]. В настоящее время нет единого подхода к лечению САРА, существует большое разнообразие клинических схем лечения, но их эффективность слабо доказана, также нет единого мнения, необходима ли профилактика против инфекций, вызванных плесневыми грибами при COVID-19 [9]. Наиболее распространенные схемы терапии первой линии аспергиллеза при COVID-19 включают препараты из группы триазолов – вориконазол, изавуконазол [10]. Однако описаны случаи о возникновении резистентности к азолам вида *Aspergillus fumigatus* при COVID-19 [10, 11]. Основным альтернативным вариантом лечения при САРА (а для лечения САМ – препарат первой линии) является липосомальный амфотерицин В, который может приводить к ухудшению функции почек. В качестве альтернативного лечения при мукормикозе, комбинированного с амфотерицином В, рекомендован позаконазол [9, 12]. Также разрабатываются новые синтетические противогрибковые препараты для лечения САРА – фосманогепикс, ибрексафунгерп, олорофим и резафунгин [10].

Scopulariopsis brevicaulis является более редким возбудителем инвазивных микозов, по сравнению с патогенами из рода *Aspergillus* и порядка *Mucorales*. Однако за последние годы появились данные о клиническом значении *Scopulariopsis brevicaulis* в отношении иммунокомпрометированных пациентов [13], в частности, описан случай коинфекции вторичной инфекции, вызванной *Scopulariopsis brevicaulis* при COVID-19 [14]. Также грибы рода *Scopulariopsis* приведены в рекомендациях по диагностике и лечению гиалогифомикозов Европейского общества клинической микробиологии и инфекционных заболеваний (ESCMID) [15].

Поиск новых препаратов для лечения и профилактики новой коронавирусной инфекции является актуальным, особенно среди растительных препаратов [16]. Китайскими учеными было предложено несколько схем лечения на основе растений для облегчения симптомов COVID-19 [17–20]. Различные лекарственные растения, такие как *Allium sativum*, *Camellia sinensis*, *Zingiber officinale*, *Nigella sativa*, *Hypericum perforatum*, *Glycyrrhiza glabra* и *Scutellaria baicalensis*, использовались для усиления иммунологического ответа у пациентов, инфицированных SARS-CoV-2 [19, 20]. Текущие данные свидетельствуют о том, что фототерапия, добавленная к стандартному лечению, имеет потенциальные преимущества при лечении симптомов COVID-19 [21].

Перспективными для углубленного изучения являются растительные объекты, обладающие не только противовирусной, но и противогрибковой активностью для облегчения течения вторичных инфекций, вызванных грибами при COVID-19 [22]. Известно, что почки тополя и препараты на его основе обладают противогрибковыми, антибактериальными, антиоксидантными, противовоспалительными, противодиабетическими, противоопухолевыми, гепатопротекторными, гипоуринемическими свойствами, в том числе против коронавируса человека HCoV-OC43 [22–27]. Значительный вклад в проявление фармакологического эффекта вносят фенольные соединения, особенно флавоноиды, фенилпропаноиды и простые фенолы [23]. Наличие антибактериальных и фунгицидных свойств почек тополя обуславливает ведущая группа биологически активных соединений – флавоноиды, а именно: пиноцембрин и пиностробин [23, 28, 29]. Продукт пчеловодства – прополис, одним из растительных источников которого являются растения рода Тополь (*Populus L.*), также обладает противогрибковыми свойствами [22, 24]. По литературным данным известно, что прополис активен в отношении штаммов *Aspergillus flavus*, выделенных из образцов мокроты человека и сухого молока и в отношении *Candida albicans*, поэтому целесообразно его использование в качестве противогрибкового и антиоксидантного средства в медицине и фармации [24, 30].

Таким образом, целью настоящего исследования являлось определение противогрибковой активности почек т. черного и т. краснонервного и прополиса, обладающих фунгицидной активностью в отношении штаммов грибов, выделенных от пациентов с новой коронавирусной инфекцией.

Экспериментальная часть

Объектами исследования являлись образцы водно-спиртовых извлечений почек т. черного и т. краснонервного на 70 и 96% этиловом спирте, полученных в соотношении «сырье-экстрагент» (1 : 40) согласно описанной методике количественного определения суммы фенольных соединений – флавоноидов и фенилпропаноидов в пересчете на пиностробин ФС.2.5.0042.15 «Тополя почки» [31].

Ранее было показано, что для большинства растений, содержащих флавоноиды, оптимальным экстрагентом является спирт 70%, поскольку данная концентрация спирта этилового позволяет максимально экстрагировать имеющуюся в растении сумму флавоноидов и обладает лучшей проникающей способностью в глубокие слои эпидермиса по сравнению с более высокими концентрациями [32, 33].

Анализируемые образцы сырья. Почки т. черного были заготовлены в апреле 2018 года, место сбора: Самарская область, Кинельский район, п. Алексеевка; почки тополя краснонервного – в апреле 2018 года, место сбора: Ботанический сад Самарского университета, г. Самара. Почки были высушены в естественных условиях.

Препараты сравнения. Препаратами сравнения с установленной антимикробной активностью служили: настойка прополиса (80% этиловый спирт; регистрационный номер: ЛСР-010528/09, ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», Россия, г. Тула, серия: 131221) и спиртовой раствор СО пиностробина 0.036%.

Тестовые культуры. В качестве тестовых культур были использованы следующие штаммы: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Mucor spp.*

Методы исследования. Оценка фунгицидной активности исследуемых извлечений проводилась с помощью определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) на основе рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (2021)». Метод двойных серийных разведений более предпочтителен для оценки противомикробной активности растительных экстрактов и по сравнению с диффузионными методами позволяет качественно оценить наличие антимикробного эффекта путем визуальной оценки в сравнении со стандартом и определения минимальной подавляющей концентрации изучаемого образца, которая обеспечивает замедление роста исследуемых штаммов микроорганизмов [34, 35].

Методика количественного определения суммы фенольных соединений в исследуемых извлечениях. Для количественного определения суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в извлечениях из почек тополя черного и краснонервного использовали фармакопейную методику количественного определения фенольных соединений в пересчете на СО пиностробин (ФС.2.5.0042.15 «Тополя почки») [31].

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на пиностробин в извлечениях в процентах (X) вычисляли по формуле [31]:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 50}{A_{\text{LCM}}^{1\%} \cdot 1 \cdot 1},$$

где D – оптическая плотность раствора В испытуемого раствора; $A_{1cm}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения пиностробина при длине волны 289 нм, равный 700.

Для определения содержания действующих веществ в извлечении из почек тополя краснонервного формула модифицирована и адаптирована под данное сырье:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 50}{A_{1cm}^{1\%} \cdot 5 \cdot 1},$$

где D – оптическая плотность раствора В испытуемого раствора; $A_{1cm}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения пиностробина при длине волны 289 нм, равный 700.

Методика количественного определения суммы фенольных соединений в препарате «Прополиса настойка». Для количественного определения суммы фенольных соединений в настойке прополиса использовали фармакопейную методику количественного определения фенольных соединений в препарате (ФС.3.4.0037.22 «Прополис, настойка для ингаляций, наружного и местного применения») [32].

Содержание суммы фенольных соединений в препарате в процентах (Х) вычисляли по формуле [32]:

$$X = \frac{A \cdot 50 \cdot 100}{V \cdot K},$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора; V – объем препарата, взятый на анализ, мл; K – коэффициент пропорциональности оптической плотности и концентрации суммы фенольных соединений субстанции при длине волны 290 нм, равный 510.

Приготовление инокулюма. Тестируемые штаммы грибов засевали на плотный питательный агар Сабуро (HiMedia, Индия) и инкубировали в термостате в течение 5 суток при температуре 35 °C. Выросшие колонии покрывали 5 мл стерильной воды, конидии смывали стерильным хлопковым тампоном и переносили с помощью пипетки в стерильную пробирку. Полученная суспензия вортексировалась в течение 15 секунд и с помощью стерильной воды суспензия доводилась до концентрации эквивалентной 0.5 единицы стандарта мутности МакФарланда. Далее суспензия разводилась 1 : 10 стерильной водой для получения конечной рабочей концентрации инокулюма $2-5 \times 10^5$ КОЕ/мл.

Приготовление рабочих растворов. Для проведения исследования использовали метод микроразведений в планшетах, тестирование проводили при величине конечного объема 200 мкл. Рабочие растворы вносили в планшеты для микроразведений по 100 мкл на лунку. При помощи многоканальных пипеток 96-луночный стерильный планшет для иммунологических исследований (с плоским дном) с крышкой заполняли двойными серийными разведениями исследуемых извлечений. Затем разведения инокулировали 100 мкл приготовленной суспензией исследуемого микроорганизма. Инокулум вносился в пробирки с разведениями образца не позднее 30 мин с момента его приготовления. Планшеты с тестируемыми штаммами инкубировали при температуре 35 °C в течение 48 ч.

Оценка роста микроорганизмов. Для определения наличия роста микроорганизма лунки планшетов с посевами просматривали в проходящем свете. Рост культуры в присутствии тестируемого образца наблюдали при сравнении с лункой «отрицательного» контроля. МПК определяли по наименьшей концентрации тестируемого образца, которая подавляет видимый рост микроорганизма [35].

Оценка результатов эксперимента. Оценку результатов проводили визуально по наличию/отсутствию роста микроорганизмов в лунках стерильного планшета для иммунологических исследований с соответствующими разведениями исследуемых образцов [35]. Минимальной подавляющей концентрацией являлась самая низкая концентрация изучаемого образца, которая полностью подавляла рост штамма микроорганизмов.

Обсуждение результатов

В целях объективного сравнения антибактериальной активности испытуемых экстрактов и препаратов сравнения были построены таблицы, отражающие концентрацию суммы фенилпропаноидов и флаваноидов в пересчете на пиностробин в соответствующей степени разведения испытуемого раствора,

проявляющего противогрибковую активность к конкретно взятому штамму (табл. 1–6), а также построена таблица «отрицательного» контроля – спирта этилового 70 и 96% (табл. 7).

Таблица 1. Результаты тестирования извлечения из почек тополя черного 70%

Микроорганизм	Порядковый номер разведения*								
	1		2		3		4		5
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
Содержание суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в извлечении (1 : 40) в % – 0.19%	0.0950	0.0475	0.0238	0.0119	0.0059	0.0029	0.0015	0.0007	0.0004
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	–	–	+	+	+	+	+	+	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Mucor</i> spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таблица 2. Результаты тестирования извлечения из почек тополя черного 96%

Микроорганизм	Порядковый номер разведения*								
	1		2		3		4		5
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
Содержание суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в извлечении (1 : 40) в % – 0.26%	0.1300	0.0650	0.0325	0.0163	0.0081	0.0041	0.0020	0.0010	0.0005
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	–	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Mucor</i> spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таблица 3. Результаты тестирования извлечения из почек тополя краснолесного 70%

Микроорганизм	Порядковый номер разведения*								
	1		2		3		4		5
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
Содержание суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в извлечении (1 : 40) в % – 0.12%	0.0600	0.0300	0.0150	0.0075	0.0038	0.0019	0.0009	0.0005	0.0002
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	–	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Mucor</i> spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таблица 4. Результаты тестирования извлечения из почек тополя краснолесного 96%

Микроорганизм	Порядковый номер разведения*								
	1		2		3		4		5
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
Содержание суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в извлечении (1 : 40) в % – 0.14%	0.0700	0.0350	0.0175	0.0088	0.0044	0.0022	0.0011	0.0005	0.0003
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	–	–	–	–	–	–	–	+	+
<i>Mucor</i> spp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+

*Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таблица 5. Минимальные подавляющие концентрации спиртового раствора пиностробина 0.036% (препарат сравнения)

Микроорганизм	Порядковый номер разведения*								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
Спиртовой раствор пиностробина 0.036%	0.0180	0.0090	0.0045	0.0023	0.0011	0.0006	0.0003	0.0001	0.00007
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Mucor</i> spp.	–	–	–	–	+	+	+	+	+

*Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таблица 6. Минимальные подавляющие концентрации настойки прополиса (препарат сравнения)

Микроорганизм	Порядковый номер разведения*								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
Содержание фенольных соединений в препарате в % – 3.05%	1.5250	0.7625	0.3813	0.1906	0.0953	0.0477	0.0238	0.0119	0.0059
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	+
<i>Mucor</i> spp.	–	+	+	+	+	+	+	+	+

*Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

Таблица 7. Минимальные подавляющие концентрации спирта этилового («отрицательный» контроль)

Объект	Кратность разведения*								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128	1 : 256	1 : 512
<i>Aspergillus fumigatus</i>									
Этиловый спирт 70%	–	+	+	+	+	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	–	–	+	+	+	+
<i>Aspergillus flavus</i>									
Этиловый спирт 70%	–	+	+	+	+	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	–	+	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>									
Этиловый спирт 70%	–	–	+	+	+	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	+	+	+	+	+	+
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>									
Этиловый спирт 70%	–	–	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	–	–	–	+	+	+
<i>Mucor</i> spp.									
Этиловый спирт 70%	–	–	+	+	+	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	–	+	+	+	+	+

*Примечание: + наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.

При сравнении 70% извлечения из почек тополя черного (1 : 40) с «отрицательным» стандартом спирта этилового в концентрации 70% отмечается усиление противогрибкового эффекта и подавление роста в отношении штаммов: *A. fumigatus* и *A. flavus* в 16 раз (до 32 разведения) (табл. 1 и 7). В отношении *A. niger* и *Scopulariopsis brevicaulis* результаты тестирования 70% извлечения из почек тополя черного (1 : 40) оказались сопоставимыми с «отрицательным» стандартом, а в отношении *Mucor* spp. исследуемое извлечение не показало выраженной активности (табл. 1 и 7). Данный факт позволяет сделать вывод об отсутствии существенного вклада комплекса биологически активных соединений экстракта в противогрибковую активность при данной концентрации извлечения из почек тополя черного в отношении штаммов *A. niger*, *Scopulariopsis brevicaulis* и *Mucor* spp. (табл. 1 и 7).

При тестировании извлечения из почек тополя черного на 96% спирте этиловом (1 : 40) отмечается чуть выше активность в отношении штаммов *A. fumigatus*, *A. flavus* и *Scopulariopsis brevicaulis* по сравнению с «отрицательным» стандартом спирта этилового в концентрации 96% (при этом исследуемое извлечение активнее крепкого спирта в 2 раза) (табл. 2 и 7). В отношении *A. niger* 96% извлечение на основе почек тополя черного показало наличие противогрибкового эффекта и подавление роста до 64 разведения, что активнее «отрицательного» стандарта в 8 раз (табл. 2 и 7). В отношении *Mucor spp.* исследуемое извлечение не показало выраженной активности (табл. 2).

Для 70% извлечения из почек тополя краснонервного (1 : 40) противогрибковая активность была выраженной в отношении *A. fumigatus* до 16 разведения (в 8 раз активнее «отрицательного» стандарта), *A. flavus* до 64 разведения (в 32 раза активнее спирта этилового 70%), а также в отношении *A. niger* до 64 разведения (при этом активность была выше в 16 раз по сравнению с «отрицательным» стандартом) (табл. 3 и 7). В отношении *Scopulariopsis brevicaulis* сохраняется высокая активность у извлечения из почек тополя краснонервного на 70% спирте этиловом (1 : 40) до 128 разведения (в 4 раза активнее «отрицательного» стандарта). При этом в отношении гриба *Mucor spp.* исследуемое извлечение не проявило противогрибковой активности (табл. 3).

При тестировании извлечения из почек тополя краснонервного на 96% спирте этиловом (1 : 40) отмечается чуть выше активность в отношении штаммов *Aspergillus spp.* и *Scopulariopsis brevicaulis* по сравнению с «отрицательным» стандартом спирта этилового в концентрации 96% (при этом исследуемое извлечение активнее спирта этилового 96% в 2 раза) (табл. 4 и 7), а в отношении *Mucor spp.* исследуемое извлечение не показало выраженной активности (табл. 4).

При оценке противогрибковой активности препарата сравнения – спиртового раствора СО пиностробина отмечена чуть большая активность в отношении штамма *A. niger* (в 2 раза активнее «отрицательного» стандарта) (табл. 5 и 7). В отношении *A. fumigatus*, *A. flavus*, *Scopulariopsis brevicaulis* и *Mucor spp.* результаты тестирования спиртового раствора СО пиностробина оказались сопоставимыми с «отрицательным» стандартом – спиртом этиловым 96%, что может свидетельствовать об отсутствии активности СО пиностробина в отношении данных штаммов (табл. 5 и 7).

Для препарата сравнения – настойки прополиса отмечена выраженная противогрибковая активность в отношении *A. niger* до 64 разведения (в 8 раз активнее спирта этилового 96%) и *Scopulariopsis brevicaulis* до 256 разведения (в 4 раза активнее «отрицательного» контроля) (табл. 6 и 7). При этом результаты тестирования настойки прополиса в отношении штаммов *A. fumigatus* и *A. flavus* оказались сопоставимыми с «отрицательным стандартом», а в отношении *Mucor spp.* препарат сравнения показал результаты ниже, чем спирт этиловый 96% (табл. 6 и 7).

Таким образом, исследуемые образцы проявили наибольшую активность в отношении постковидных штаммов *Aspergillus spp.* и *Scopulariopsis brevicaulis*. При этом необходимо отметить, что наиболее широким спектром активности обладает извлечение из почек т. краснонервного на основе 70%, которое показало значительную активность в отношении *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus* и *Scopulariopsis brevicaulis* в сравнении с «отрицательным» стандартом (табл. 3 и 7).

Необходимо отметить, что наименьшая концентрация суммы флавоноидов и фенилпропаноидов в препарате сравнения – настойка прополиса, оказывающих фунгицидную активность, оказалась для *A. fumigatus* 0.0953%, *A. flavus* 0.1906%, *A. niger* 0.0477% (табл. 6). Однако в целом на виды рода *Aspergillus spp.* наибольшее фунгицидное действие оказывали извлечения из почек т. краснонервного (табл. 3 и 4). При этом заметно отличие в ряду видов *Aspergillus spp.* и концентрации этилового спирта. Для *A. fumigatus* наибольшая фунгицидная активность с минимальной концентрацией действующих веществ отмечена для извлечения почек т. краснонервного на 96% этиловом спирте (табл. 4), а в отношении *A. flavus* и *A. niger* – для извлечения из почек т. краснонервного на 70% этиловом спирте (табл. 3).

Анализируемые извлечения почек т. черного и т. краснонервного показали неодинаковый фунгицидный эффект (табл. 1–4).

Так, извлечения почек т. черного проявили активность в отношении всех штаммов рода *Aspergillus spp.* данного эксперимента (табл. 1 и 2). Однако сравнивая противогрибковую активность липофильного (96% этанол) и гидрофильного (70% этанол) экстрактов почек т. черного, отмечено отсутствие корреляции к концентрации спирта этилового. В частности, в отношении штамма *A. fumigatus* большую активность проявило извлечение на 96% этиловом спирте, минимальная концентрация суммы фенольных соединений

составила 0.0041% при разведении 1 : 64 (табл. 2). При этом извлечение почек т. черного на 70% спирте этиловом оказалось менее активным с минимально действующей концентрацией 0.0059% при разведении 1 : 32 (табл. 1). Однако данные извлечения при действии на штамм *A. flavus* показали иной результат – наибольшую активность проявило извлечение на 70% этаноле с содержанием суммы фенольных соединений 0.0059% при разведении 1 : 32, извлечение на 96% этаноле имело наименьшую концентрацию 0.0081% при равных условиях разведения (табл. 1 и 2). При этом активность извлечений из почек т. краснонервного была выше, чем у извлечений из почек т. черного (табл. 1–4). При воздействии на штамм *A. niger* извлечение почек т. черного на 70% этаноле проявило крайне низкую активность (табл. 1). Ее фунгицидное действие ограничилось разведением 1 : 4 при общей концентрации фенольных соединений в растворе 0.0475% (табл. 1).

Сравнивая извлечения почек т. черного и т. краснонервного на 96% этаноле, в отношении штамма *A. niger* отмечена наибольшая фунгицидная активность у извлечения из почек т. черного с содержанием действующих веществ 0.0041% при разведении 1 : 64, однако более активным в отношении данного штамма оставалось извлечение из почек т. краснонервного на 70% этиловом спирте – 0.0019% при разведении 1 : 64 (табл. 2–4).

При сравнении извлечений (70 и 96% этанола) из почек т. краснонервного на три штамма *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* выявлена большая фунгицидная активность извлечения на 70% спирте в отношении *A. niger* и в отношении *A. flavus*, концентрация фенольных соединений в обоих случаях составила 0.019% (табл. 3 и 4). В отношении *A. fumigatus* извлечение на 70% спирте оказалось менее активным, наименьшая концентрация суммы фенольных соединений составляла 0.0075% при разведении 1 : 16 (табл. 3). При воздействии на *A. fumigatus* минимальная концентрация фенольных соединений извлечения из почек т. краснонервного на 96% спирте составило 0.0022% при разведении 1 : 64 (табл. 4). В отношении *A. flavus* аналогичное извлечение имело минимальную концентрацию фенольных соединений 0.0044% при разведении 1 : 32 (табл. 4). В отношении *A. niger* аналогичное извлечение проявило меньшую фунгицидную активность, сумма фенольных соединений составила при этом 0.0088% при разведении 1 : 16 (табл. 4).

На основании проведенного тестирования исследуемых образцов можно предположить, что фунгицидная активность исследуемых извлечений почек тополя обусловлена наличием в их составе флаванонов, обладающих доказанной антибактериальной активностью [22, 28, 29]. Как описывалось ранее, низкая активность пиностробина связана с замещенной ОН-группой в положении 7, при этом соединения со свободной ОН-группой в положении 7 (пиноцембрин) показали высокую противомикробную и противогрибковую активность [22].

В целом необходимо отметить, что извлечения из почек т. краснонервного оказались более активными, нежели аналогичные извлечения из почек т. черного (табл. 1–4). У препарата сравнения – «Настойка прополиса» фунгицидная активность была ниже, чем у исследуемых извлечений почек т. черного и т. краснонервного (табл. 1–6).

При воздействии извлечений на штамм *Scopulariopsis brevicaulis* наименьшую фунгицидную активность проявили извлечения из почек т. краснонервного, содержание действующих веществ в извлечении почек т. краснонервного на 70% этаноле составило 0.009%, а на 96% – 0.0011% при разведении в обоих случаях 1 : 128 (табл. 3 и 4). При этом минимальная концентрация фенольных соединений всех исследуемых образцов в целом, а также препаратов сравнения, оказалась наименьшей, что показывает значительно более высокий противогрибковый потенциал в отношении данного штамма суммы фенольных соединений извлечений почек сравниваемых видов и настойки прополиса (табл. 1–6).

В аналогичных условиях эксперимента исследуемые образцы извлечений из почек т. черного и т. краснонервного не проявили фунгицидную активность в отношении штамма *Mucor* spp. (табл. 1–4).

Заключение

В целом необходимо отметить наибольшую фунгицидную активность извлечения на основе почек т. краснонервного на 70% этиловом спирте, обладающего широким спектром противогрибковой активности в отношении постковидных грибов. Данный факт говорит о перспективности дальнейших исследований и разработке препартов на основе почек т. краснонервного.

На основании полученных данных можно предположить, что наличие фунгицидной активности в отношении штаммов постковидных грибов извлечений на основе почек тополя связана с наличием суммы

фенольных соединений: флавоноидов и фенилпропаноидов. При этом остается открытым вопрос относительно вклада в fungicidную активность в отношении постковидных штаммов флавоноидов со свободной OH-группой в положении 7 (пиноцембрин), фенилпропаноидов, а также сопутствующих терпеновых соединений (компоненты эфирного масла) в анализируемых образцах.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Самарского государственного медицинского университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Электронный ресурс]. URL: <https://covid19.who.int>.
2. Avdeeva M.G., Zотов S.V., Kulbuzheva M.I., Moshkova D.Yu., Zhuravleva E.V. Fungal complications with the new coronavirus infection COVID-19 // Epidemiology and Infectious Diseases. 2021. Vol. 26, no. 6. Pp. 252–269. <https://doi.org/10.17816/EID108872>.
3. Koehler P., Bassetti M., Chakrabarti A. et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance // The Lancet. Infectious Diseases. 2021. Vol. 21, no. 6. Pp. e149–e162. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30847-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30847-1).
4. Hoenigl M., Seidel D., Sprute R., Cunha C., Oliverio M., Goldman G.H., Ibrahim A.S., Carvalho A. COVID-19-associated fungal infections // Nature Microbiology. 2022. Vol. 7, no. 8. Pp. 1127–1140. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01172-2>.
5. Verweij P.E., Brüggemann R.J.M., Azoulay E. et al. Taskforce report on the diagnosis and clinical management of COVID-19 associated pulmonary aspergillosis // Intensive Care Medicine. 2021. Vol. 47, no. 8. Pp. 819–834. <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06449-4>.
6. Balushi A.A., Ajmi A.A., Sinani Q.A. et al. COVID-19-Associated Mucormycosis: An Opportunistic Fungal Infection // International Journal of Infectious Diseases. 2022. Vol. 121. Pp. 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.05.005>.
7. Kayaaslan B., Eser F., Kaya Kalem A., Bilgic Z., Asilturk D., Hasanoglu I., Ayhan M., Tezer Tekce Y., Erdem D., Turan S., Mumcuoglu I., Guner R. Characteristics of candidemia in COVID-19 patients; increased incidence, earlier occurrence and higher mortality rates compared to non-COVID-19 patients // Mycoses. 2021. Vol. 64, no. 9. Pp. 1083–1091. <https://doi.org/10.1111/myc.13332>.
8. Manchanda S., Semalti K., Bhalla A.S., Thakar A., Sikka K., Verma H. Revisiting rhino-orbito-cerebral acute invasive fungal sinusitis in the era of COVID-19: pictorial review // Emergency Radiology. 2021. Vol. 28, no. 6. Pp. 1063–1072. <https://doi.org/10.1007/s10140-021-01980-9>.
9. Huang S.F., Ying-Jung Wu A., Shin-Jung Lee S. et al. COVID-19 associated mold infections: Review of COVID-19 associated pulmonary aspergillosis and mucormycosis // Journal of Microbiology, Immunology and Infection. 2023. Vol. 56, no. 3. Pp. 442–454. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2022.12.004>.
10. Овсянников Н.В., Билевич О.А. COVID-19-ассоциированный легочный аспергиллез // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021. Т. 23, №3. С. 239–246. <https://doi.org/10.36488/cmac.2021.3.239-246>.
11. Mohamed A., Hassan T., Trzos-Grzybowska M., Thomas J., Quinn A., O'Sullivan M., Griffin A., Rogers T.R., Talento A.F. Multi-triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* and SARS-CoV-2 co-infection: A lethal combination // Medical Mycology Case Reports. 2021. Vol. 31. Pp. 11–14. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2020.06.005>.
12. Islam M.R., Rahman M.M., Ahsan M.T., Sarkar N., Akash S., Islam M., Islam F., Aktar M.N., Saeed M., Harun-Or-Rashid M., Hosain M.K., Rahaman M.S., Afroz S., Bibi S., Rahman M.H., Sweilam S.H. The impact of mucormycosis (black fungus) on SARS-CoV-2-infected patients: at a glance // Environmental Science and Pollution Research International. 2022. Vol. 29, no. 46. Pp. 69341–69366. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22204-8>.
13. Kurata K., Nishimura S., Ichikawa H., Sakai R., Mizutani Y., Takenaka K., Kakiuchi S., Miyata Y., Kitao A., Yaku-shijin K., Kawamoto S., Yamamoto K., Ito M., Matsuoka H., Tokimatsu I., Kamei K., Minami H. Invasive *Scopulariopsis alboflavescens* infection in patient with acute myeloid leukemia // International Journal of Hematology. 2018. Vol. 108, no. 6. Pp. 658–664. <https://doi.org/10.1007/s12185-018-2496-1>.
14. Chen S.H., Chang T.Y., Kuo C.Y., Chang C.C., Jaing T.H., Chen C.J., Huang Y.C., Chiu C.H. Successful treatment of COVID-associated fungal infection due to *Scopulariopsis* and *Aspergillus* in a girl with acute lymphoblastic leukemia // Pediatric Blood & Cancer. 2023. Vol. 70, no. 5. e30218. <https://doi.org/10.1002/pbc.30218>.

15. Tortorano A.M., Richardson M., Roilides E. et al. ESCMID and ECMM joint guidelines on diagnosis and management of hyalohyphomycosis: *Fusarium* spp., *Scedosporium* spp. and others // Clinical Microbiology and Infection. 2014. Vol. 20. Pp. 27–46. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12465>.
16. Adeleye O.A., Bamiro O.A., Bakre L.G., Odeleye F.O., Adebawale M.N., Okunye O.L., Sodeinde M.A., Adebola A.C., Menaa F. Medicinal Plants with Potential Inhibitory Bioactive Compounds against Coronaviruses // Advanced Pharmaceutical Bulletin. 2022. Vol. 12, no. 1. Pp. 7–16. <https://doi.org/10.34172/apb.2022.003>.
17. Tallei T.E., Tumilaar S.G., Niode N.J., Fatimawali, Kepel B.J., Idroes R., Effendi Y., Sakib S.A., Emran T.B. Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV-2 Main Protease (M^{pro}) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study // Scientifica (Cairo). 2020. Vol. 2020. 6307457. <https://doi.org/10.1155/2020/6307457>.
18. Jin Y.H., Cai L., Cheng Z.S. et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version) // Military Medical Research. 2020. Vol. 7, no. 1. Article. 4. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-0233-6>.
19. Raman K., Rajagopal K., Islam F., Dhawan M., Mitra S., Aparna B., Varakumar P., Byran G., Choudhary O.P., Emran T.B. Role of natural products towards the SARS-CoV-2: A critical review // Annals of Medicine and Surgery. 2022. Vol. 80. 104062. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104062>.
20. Boozari M., Hosseinzadeh H. Natural products for COVID-19 prevention and treatment regarding to previous coronavirus infections and novel studies // Phytotherapy Research. 2021. Vol. 35, no. 2. Pp. 864–876. <https://doi.org/10.1002/ptr.6873>.
21. Ang L., Song E., Hu X.Y., Lee H.W., Chen Y., Lee M.S. Herbal Medicine Intervention for the Treatment of COVID-19: A Living Systematic Review and Cumulative Meta-Analysis // Frontiers in pharmacology. 2022. Vol. 13. 906764. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.906764>.
22. Браславский В.Б., Куркин В.А., Жданов И.П. Антимикробная активность экстрактов и эфирных масел почек некоторых видов *Populus* L. // Растительные ресурсы. 1991. Т. 27, №2. С. 77–81.
23. Kis B., Avram S., Pavel I.Z., Lombrea A., Buda V., Dehelean C.A., Soica C., Yerer M.B., Bojin F., Folescu R., Danciu C. Recent Advances Regarding the Phytochemical and Therapeutic Uses of *Populus nigra* L. Buds // Plants. 2020. Vol. 9, no. 11. 1464. <https://doi.org/10.3390/plants9111464>.
24. Poblocka-Olech L., Inkiewicz-Stepniak I., Krauze-Baranowska M. Anti-inflammatory and antioxidative effects of the buds from different species of *Populus* in human gingival fibroblast cells: role of bioflavanones // Phytomedicine. 2019. Vol. 56. Pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.08.015>
25. Stanciauskaitė M., Marksė M., Babickaitė L., Majiene D., Ramanauskienė K. Comparison of Ethanolic and Aqueous *Populus balsamifera* L. Bud Extracts by Different Extraction Methods: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities // Pharmaceuticals. 2021. Vol. 14, no. 10. 1018. <https://doi.org/10.3390/ph14101018>.
26. Debbache-Benaida N., Atmani-Kilani D., Schini-Keirth V.B., Djebbli N., Atmani D. Pharmacological potential of *Populus nigra* extract as antioxidant, anti-inflammatory, cardiovascular and hepatoprotective agent // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2013. Vol. 3, no. 9. Pp. 697–704. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60141-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60141-0).
27. Zhao L., Yao L., Chen R., He J., Lin T., Qiu S., Chen G., Chen H., Qiu S.X. Pino strobin from plants and propolis against human coronavirus HCoV-OC43 by modulating host AHR/CYP1A1 pathway and lipid metabolism // Antiviral Research. 2023. Vol. 212. 105570. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2023>.
28. Patel N.K., Jaiswal G., Bhutani K.K. A review on biological sources, chemistry and pharmacological activities of pino strobin // Natural Product Research. 2016. Vol. 30, no. 18. Pp. 2017–2027. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1107556>.
29. Shen X., Liu Y., Luo X., Yang Z. Advances in Biosynthesis, Pharmacology, and Pharmacokinetics of Pinocembrin, a Promising Natural Small-Molecule Drug // Molecules. 2019. Vol. 24, no. 12. 2323. <https://doi.org/10.3390/molecules24122323>.
30. Grotewold E. The Science of Flavonoids. 8th ed. New York: Springer, 2006. 274 p. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2>
31. ФС.2.5.0042.15. Тополя почки // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018. Т. 4. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/2/2-5/topolya-pochki-populi-gemmae/>.
32. ФС.3.4.0037.22. Прополис, настойка для ингаляций, наружного и местного применения // Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018. Т. 4. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/3/3-4/propolis-nastoyka-dlya-ingalyatsiy-naruzhnogo-i-mestnogo-primeneniya/>.
33. Hassanien A.A., Shaker E.M., El-Sharkawy E.E., Elsherif W.M. Antifungal and antitoxin effects of propolis and its nanoemulsion formulation against *Aspergillus flavus* isolated from human sputum and milk powder samples // Veterinary World. 2021. Vol. 14, no. 9. Pp. 2306–2312. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2306-2312>.
34. Ryabov N.A., Ryzhov V.M., Kurkin V.A. Methods for quantitative determination of total flavonoids in *Quercus robur* L. BUDS // Pharmacy & Pharmacology. 2021. Vol. 9, no. 5. Pp. 356–366. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-5-356-366>.
35. Goliś J., Sawicki R., Widelski J., Ginalska G. The agar microdilution method – a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts // Journal of Applied Microbiology. 2016. Vol. 121, no. 5. Pp. 1291–1299. <https://doi.org/10.1111/jam.13253>.

Поступила в редакцию 20 ноября 2023 г.

После переработки 20 декабря 2023 г.

Принята к публикации 1 февраля 2024 г.

Urbanchik E.A., Kurkin V.A.*, Ryzhov V.M., Lyamin A.V., Kozlov A.V., Tsibina A.S. DETERMINATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF POPLAR BUDS AND PROPOLIS AGAINST COVID-19 STRAINS OF POSTCOID INFECTIONS

Samara State Medical University, Chapayevskaya st., 89, Samara, 443099, Russia, v.a.kurkin@samsmu.ru

The new coronavirus infection is currently still an important problem for humanity as well as the global medical community. The COVID-19 virus is dangerous because it causes direct damage to the epithelium of the respiratory tract, thereby contributing to the penetration of bacteria and fungi into the tissues of the body. Invasive mycoses are a serious complication and cause a high percentage of deaths in hospitalized patients. The main strains of coinfections in COVID-19 are: *Aspergillus*, *Mucorales* and *Candida*. The issue of treatment and the possibility of prevention of secondary fungal infections in coronavirus infection is particularly acute. The aim of the work was to determine the antifungal activity of poplar (*Populus L.*) buds and propolis with antimicrobial activity against fungal strains isolated from patients with a new coronavirus infection. The paper reflects the results of the study of antifungal activity of the investigated samples of extracts of *Populus nigra L.* and *Populus rubrinervis* Hort. Alb. buds (70 and 96% ethyl alcohol) against clinical strains of *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Mucor* spp. Propolis tincture and alcoholic solution of the reference sample (RS) of pinostrobin were the comparison preparations. The greatest activity of extracts from *Populus rubrinervis* Hort. Alb. buds against *Aspergillus fumigatus* (the content of active substances in 96% ethyl alcohol extraction – 0.0022%), *Aspergillus flavus* (70% ethyl alcohol extraction – 0.0019%), *Aspergillus niger* (70% ethyl alcohol extraction – 0.0019%), *Scopulariopsis brevicaulis* (70% ethyl alcohol extraction – 0.0009%). Propolis tincture showed the lowest fungicidal activity, has activity against *A. niger* and *Scopulariopsis brevicaulis* strains. The comparison preparation – alcoholic solution of RS pinostrobin showed antifungal activity against *A. niger* strain. Against *Mucor* spp. the tested extracts of poplar buds and comparison preparations did not show any pronounced fungicidal activity. The presence of fungicidal activity against strains of postcoid fungi of extracts of poplar bud extracts is presumably associated with the presence of the sum of phenolic compounds: flavonoids and phenylpropanoids.

Keywords: COVID-19, antifungal activity, *Populus nigra L.*, *Populus rubrinervis* Hort. Alb., propolis, flavonoids.

For citing: Urbanchik E.A., Kurkin V.A., Ryzhov V.M., Lyamin A.V., Kozlov A.V., Tsibina A.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 4, pp. 125–137. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240414056.

References

- WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. URL: <https://covid19.who.int>.
- Avdeeva M.G., Zotov S.V., Kulbuzheva M.I., Moshkova D.Yu., Zhuravleva E.V. *Epidemiology and Infectious Diseases*, 2021, vol. 26, no. 6, pp. 252–269. <https://doi.org/10.17816/EID108872>.
- Koehler P., Bassetti M., Chakrabarti A. et al. *The Lancet. Infectious Diseases*, 2021, vol. 21, no. 6, pp. e149–e162. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30847-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30847-1).
- Hoenigl M., Seidel D., Sprute R., Cunha C., Oliverio M., Goldman G.H., Ibrahim A.S., Carvalho A. *Nature Microbiology*, 2022, vol. 7, no. 8, pp. 1127–1140. <https://doi.org/10.1038/s41564-022-01172-2>.
- Verweij P.E., Brüggemann R.J.M., Azoulay E. et al. *Intensive Care Medicine*, 2021, vol. 47, no. 8, pp. 819–834. <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06449-4>.
- Balushi A.A., Ajmi A.A., Sinani Q.A. et al. *International Journal of Infectious Diseases*, 2022, vol. 121, pp. 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.05.005>.
- Kayaaslan B., Eser F., Kaya Kalem A., Bilgic Z., Asilturk D., Hasanoglu I., Ayhan M., Tezer Tekce Y., Erdem D., Turan S., Mumcuoglu I., Guner R. *Mycoses*, 2021, vol. 64, no. 9, pp. 1083–1091. <https://doi.org/10.1111/myc.13332>.
- Manchanda S., Semalti K., Bhalla A.S., Thakar A., Sikka K., Verma H. *Emergency Radiology*, 2021, vol. 28, no. 6, pp. 1063–1072. <https://doi.org/10.1007/s10140-021-01980-9>.
- Huang S.F., Ying-Jung Wu A., Shin-Jung Lee S. et al. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 2023, vol. 56, no. 3, pp. 442–454. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2022.12.004>.
- Ovsyannikov N.V., Bilevich O.A. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*, 2021, vol. 23, no. 3, pp. 239–246. <https://doi.org/10.36488/cmac.2021.3.239-246>. (in Russ.).
- Mohamed A., Hassan T., Trzos-Grzybowska M., Thomas J., Quinn A., O'Sullivan M., Griffin A., Rogers T.R., Talento A.F. *Medical Mycology Case Reports*, 2021, vol. 31, pp. 11–14. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2020.06.005>.
- Islam M.R., Rahman M.M., Ahsan M.T., Sarkar N., Akash S., Islam M., Islam F., Aktar M.N., Saeed M., Harun-Or-Rashid M., Hosain M.K., Rahaman M.S., Afroz S., Bibi S., Rahman M.H., Sweilam S.H. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2022, vol. 29, no. 46, pp. 69341–69366. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-22204-8>.
- Kurata K., Nishimura S., Ichikawa H., Sakai R., Mizutani Y., Takenaka K., Kakiuchi S., Miyata Y., Kitao A., Yaku-shijin K., Kawamoto S., Yamamoto K., Ito M., Matsuoka H., Tokimatsu I., Kamei K., Minami H. *International Journal of Hematology*, 2018, vol. 108, no. 6, pp. 658–664. <https://doi.org/10.1007/s12185-018-2496-1>.
- Chen S.H., Chang T.Y., Kuo C.Y., Chang C.C., Jaing T.H., Chen C.J., Huang Y.C., Chiu C.H. *Pediatric Blood & Cancer*, 2023, vol. 70, no. 5, e30218. <https://doi.org/10.1002/pbc.30218>.
- Tortorano A.M., Richardson M., Roilides E. et al. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014, vol. 20, pp. 27–46. <https://doi.org/10.1111/1469-0911.12465>.

* Corresponding author.

16. Adeleye O.A., Bamiro O.A., Bakre L.G., Odeleye F.O., Adebawale M.N., Okunye O.L., Sodeinde M.A., Adebona A.C., Menaa F. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2022, vol. 12, no. 1, pp. 7–16. <https://doi.org/10.34172/apb.2022.003>.
17. Tallei T.E., Tumilaar S.G., Niode N.J., Fatimawali, Kepel B.J., Idroes R., Effendi Y., Sakib S.A., Emran T.B. *Scientifica (Cairo)*, 2020, vol. 2020, 6307457. <https://doi.org/10.1155/2020/6307457>.
18. Jin Y.H., Cai L., Cheng Z.S. et al. *Military Medical Research*, 2020, vol. 7, no. 1, article. 4. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-0233-6>.
19. Raman K., Rajagopal K., Islam F., Dhawan M., Mitra S., Aparna B., Varakumar P., Byran G., Choudhary O.P., Emran T.B. *Annals of Medicine and Surgery*, 2022, vol. 80, 104062. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104062>.
20. Boozari M., Hosseinzadeh H. *Phytotherapy Research*, 2021, vol. 35, no. 2, pp. 864–876. <https://doi.org/10.1002/ptr.6873>.
21. Ang L., Song E., Hu X.Y., Lee H.W., Chen Y., Lee M.S. *Frontiers in pharmacology*, 2022, vol. 13, 906764. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.906764>.
22. Braslavskiy V.B., Kurkin V.A., Zhdanov I.P. *Rastitel'nyye resursy*, 1991, vol. 27, no. 2, pp. 77–81. (in Russ.).
23. Kis B., Avram S., Pavel I.Z., Lombrea A., Buda V., Dehelean C.A., Soica C., Yerer M.B., Bojin F., Folescu R., Danciu C. *Plants*, 2020, vol. 9, no. 11, 1464. <https://doi.org/10.3390/plants9111464>.
24. Poblocka-Olech L., Inkielewicz-Stepniak I., Krauze-Baranowska M. *Phytomedicine*, 2019, vol. 56, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.08.015>.
25. Stanciauskaite M., Marks M., Babickaitė L., Majiene D., Ramanauskienė K. *Pharmaceuticals*, 2021, vol. 14, no. 10, 1018. <https://doi.org/10.3390/ph14101018>.
26. Debbache-Benaida N., Atmani-Kilani D., Schini-Keirth V.B., Djebbli N., Atmani D. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2013, vol. 3, no. 9, pp. 697–704. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60141-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60141-0).
27. Zhao L., Yao L., Chen R., He J., Lin T., Qiu S., Chen G., Chen H., Qiu S.X. *Antiviral Research*, 2023, vol. 212, 105570. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2023>.
28. Patel N.K., Jaiswal G., Bhutani K.K. *Natural Product Research*, 2016, vol. 30, no. 18, pp. 2017–2027. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1107556>.
29. Shen X., Liu Y., Luo X., Yang Z. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 12, 2323. <https://doi.org/10.3390/molecules24122323>.
30. Grotewold E. *The Science of Flavonoids. 8th ed.* New York: Springer, 2006, 274 p. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2>
31. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniye.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed.]. Moscow, 2018, vol. 4. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/2/2-5/topolyapochki-populi-gemmae/>. (in Russ.).
32. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XIV izdaniye.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed.]. Moscow, 2018, vol. 4. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/3/3-4/propolis-nastoyka-dlya-ingalyatsiy-naruzhnogo-i-mestnogo-primeneniya/>. (in Russ.).
33. Hassanien A.A., Shaker E.M., El-Sharkawy E.E., Elsherif W.M. *Veterinary World*, 2021, vol. 14, no. 9, pp. 2306–2312. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2306-2312>.
34. Ryabov N.A., Ryzhov V.M., Kurkin V.A. *Pharmacy & Pharmacology*, 2021, vol. 9, no. 5, pp. 356–366. <https://doi.org/10.19163/2307-9266-2021-9-5-356-366>.
35. Golus J., Sawicki R., Widelski J., Ginalska G. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, vol. 121, no. 5, pp. 1291–1299. <https://doi.org/10.1111/jam.13253>.

Received November 20, 2023

Revised December 20, 2023

Accepted February 1, 2024

Сведения об авторах

Урбанчик Елена Александровна – старший преподаватель кафедры фармакологии имени заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.А. Лебедева, кандидат фармацевтических наук, e.a.urbanchik@samsmu.ru

Куркин Владимир Александрович – заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, доктор фармацевтических наук, профессор, v.a.kurkin@samsmu.ru

Рыжов Виталий Михайлович – доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, кандидат фармацевтических наук, v.m.ryzhov@samsmu.ru

Лямин Артём Викторович – директор научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий, врач-бактериолог, доктор медицинских наук, a.v.lyamin@samsmu.ru

Козлов Андрей Владимирович – старший преподаватель кафедры фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, заведующий лабораторией молекулярной патологии научно-образовательного профессионального центра генетических и лабораторных технологий, кандидат медицинских наук, a.v.kozlov@samsmu.ru

Цибина Анастасия Сергеевна – старший преподаватель кафедры фармакологии имени заслуженного деятеля науки РФ, профессора А.А. Лебедева, a.s.tsibina@samsmu.ru

Information about authors

Urbanchik Elena Aleksandrovna – senior lecturer of the Department of Pharmacology named after Honored Scientist of the Russian Federation, Professor A.A. Lebedeva, Candidate of Pharmaceutical Sciences, e.a.urbanchik@samsmu.ru

Kurkin Vladimir Aleksandrovich – Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Fundamentals of Phytotherapy, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, v.a.kurkin@samsmu.ru

Ryzhov Vitaly Mikhailovich – Associate Professor of the Department of Pharmacognosy with Botany and Fundamentals of Phytotherapy, Candidate of Pharmaceutical Sciences, v.m.ryzhov@samsmu.ru

Lyamin Artem Viktorovich – Director of the Scientific and Educational Professional Center for Genetic and Laboratory Technologies, bacteriologist, Doctor of Medical Sciences, a.v.lyamin@samsmu.ru

Kozlov Andrey Vladimirovich – Senior Lecturer of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry with Laboratory Diagnostics, Head of the Laboratory of Molecular Pathology of the Scientific and Educational Professional Center for Genetic and Laboratory Technologies, Candidate of Medical Sciences, a.v.kozlov@samsmu.ru

Tsibina Anastasia Sergeevna – Senior Lecturer at the Department of Pharmacology named after Honored Scientist of the Russian Federation, Professor A.A. Lebedev, a.s.tsibina@samsmu.ru