

УДК 615.322

ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТРАВЫ ЛЬНЯНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*LINARIA VULGARIS* MILL.)

© А.К. Уэйли^{1*}, А.О. Уэйли^{1,2}, Т.В. Бомбела³, О.А. Кроткова³, А.С. Чащина³, В.В. Новикова³,
В.О. Васильев³, В.Г. Лужанин³

¹ Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический
университет, ул. Проф. Попова, 14А, Санкт-Петербург, 197376, Россия,
9968639@gmail.com

² Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
пр. Тореза, 44, Санкт-Петербург, 194223, Россия

³ Пермская государственная фармацевтическая академия,
ул. Екатерининская, 110, Пермь, 614990, Россия

Повсеместное и неуместное применение антибиотиков привело к возникновению новых резистентных штаммов микроорганизмов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), что сделало многие доступные в настоящее время лекарственные препараты неэффективными. Таким образом, существует растущая потребность в разработке новых противомикробных препаратов, которые способны снизить использование антибиотиков и противостоять развитию резистентности. Согласно ранее проведенным исследованиям, полифенолы способны проявлять выраженную противомикробную активность. Льянка обыкновенная (*Linaria vulgaris* Mill.) является одним из перспективных представителей рода *Linaria*, химический состав которой представлен такими классами метаболитов, как фенольные кислоты, флавоноиды, фенольные гликозиды, алкалоиды и иридоиды. В результате настоящего исследования из травы *L. vulgaris* было выделено шесть соединений, относящихся к классам флавоноидов и фенольных кислот, а также изучена их активность в отношении *S. aureus*, *C. albicans* и *E. coli*. Среди всех выделенных соединений наибольшую противомикробную активность показала п-кумаровая кислота, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) которой составила 250, 500 и 1000 мкг/мл в отношении *C. albicans*, *E. coli* и *S. aureus* соответственно.

Ключевые слова: *Linaria vulgaris*, льянка обыкновенная, полифенолы, флавоноиды, фенольные кислоты, антибактериальная активность, противогрибковая активность, пектолинарин, п-кумаровая кислота.

Для цитирования: Уэйли А.К., Уэйли А.О., Бомбела Т.В., Кроткова О.А., Чащина А.С., Новикова В.В., Васильев В.О., Лужанин В.Г. Противомикробная активность вторичных метаболитов, выделенных из травы льянки обыкновенной (*Linaria vulgaris* Mill.) // Химия растительного сырья. 2024. №4. С. 287–296. DOI: 10.14258/jcprm.20240414795.

Введение

Род льянка – *Linaria*, относящийся к семейству норичниковые – *Scrophulariaceae*, включает в себя порядка 200 видов, которые широко распространены в северном полушарии. Некоторые виды рода *Linaria* нашли применение в медицине в качестве тонизирующих, антицинготных, слабительных, диуретических и противодиабетических средств, а также для лечения геморроя и сосудистых заболеваний [1]. Многолетнее травянистое растение льянка обыкновенная (*Linaria vulgaris* Mill.) является одним из перспективных представителей данного рода, что подтверждено исследованиями химического состава и биологической активности экстрактов и индивидуальных веществ *L. vulgaris* [2–4]. Согласно данным Cheriet et al. 2015 [5], *L. vulgaris* является наиболее распространенным источником алкалоидов рода *Linaria*. Рядом исследователей из *L. vulgaris* были выделены такие алкалоиды как вазицин [6], 7-гидроксивазицин, линариновая кислота (1,2,3,9-тетрагидропирроло(2,1-*b*)хиназолин-1-карбоновая кислота) [7] и линавулин (7-метил-4-гидрокси-

* Автор, с которым следует вести переписку.

метил-1,3-диоксо-1,2,3,4-тетрагидроциклопента[2,3-с]пиридин) [8]. Среди других классов вторичных метаболитов отмечается высокое содержание фенольных кислот [7, 9, 10], фенольных гликозидов [11], флавоноидов [12–15], а также иридоидов и их гликозидов [11, 16–18], которые являются хемотаксономическими маркерами семейства *Scrophulariaceae* [5]. Среди флавоноидов наиболее значимы для *L. vulgaris* агликоны и гликозиды флавононов и флавонолов, в частности, производные флавоон-7-рутинозида, одним из представителей которых является пектолинарин, специфичный для данного рода [5].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), 80% развивающихся стран до сих пор широко используют лекарственные препараты, полученные из растений, а также считают растения одним из потенциальных источников новых лекарств [19, 20]. Повсеместное и неуместное применение антибиотиков привело к возникновению новых резистентных штаммов микроорганизмов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), что сделало многие доступные в настоящее время лекарственные препараты неэффективными [21–23]. Таким образом, существует растущая потребность в разработке новых противомикробных препаратов, которые способны снизить использование антибиотиков и противостоять развитию резистентности. Данная проблема побудила исследователей по всему миру к активному поиску и выделению из растений индивидуальных соединений, обладающих противомикробной активностью. Согласно ранее проведенным исследованиям, полифенолы способны проявлять выраженную противомикробную активность [24–26].

Таким образом, **целью** настоящего исследования является выделение вторичных метаболитов из травы *L. vulgaris* и изучение их противомикробной активности в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*.

Экспериментальная часть

Материалом исследования являлась надземная часть *L. vulgaris*, собранная в фазу цветения – начала плодоношения в июле 2021 года в поселке Оверята Краснокамского района Пермского края. Трава высушена естественным путем в проветриваемом помещении, без попадания прямых солнечных лучей при температуре 23–25 °С. Гербарные образцы хранятся в коллекции ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (кафедра ботаники и фармацевтической биологии).

ВЭЖХ-хроматограммы вместе с УФ-спектрами получали на приборе Prominence LC-20 с диодно-матричным детектором SPD-M20A (Shimadzu corp., Япония) с колонкой Supelcosil LC18 (250 × 4.6, 5 мкм). Препаративную ВЭЖХ проводили с использованием системы Knauer Smartline со спектрофотометрическим детектором, снабженным колонкой Kromasil C18 (250 × 30 мм, 5 мкм) для препаративной ВЭЖХ. Для анализа ВЭЖХ и препаративной ВЭЖХ использовали растворители марки J.T. Baker класса ВЭЖХ. Хроматографию на открытых колонках (КК) проводили на сорбентах Sephadex LH-20 (Cytiva, Швеция). Спектры 1D- и 2D-ЯМР получены на ЯМР-спектрометре Bruker Avance III 400 (Bruker, Германия).

500 г измельченного и просеянного через сито с диаметром отверстий 2 мм растительного материала *L. vulgaris* экстрагировали 96%-м этиловым спиртом путем исчерпывающей мацерации при комнатной температуре. После каждого цикла экстракции полученное извлечение фильтровали и концентрировали на вакуумно-ротационном испарителе (Heidolph, Германия). Отогнанный растворитель возвращали в растительный материал для дальнейшей мацерации. Процесс повторяли до истощения сырья, контроль экстракции осуществляли по сухому остатку. Полученный суммарный 96%-й этанольный экстракт концентрировали на ротационном испарителе до объема 400 мл, после чего к концентрированному экстракту добавляли 100 мл воды очищенной и подвергали жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) равным объемом *n*-гексана, процесс ЖЖЭ с *n*-гексаном повторяли 7 раз. Гексановые извлечения, объединяли и упаривали под вакуумом при температуре 50 °С до объема 150 мл, получая таким образом *n*-гексановую фракцию. К остатку после экстракции *n*-гексаном добавляли 200 мл воды, после чего его подвергали ЖЖЭ, используя 500 мл дихлорметана (ДХМ), процесс ЖЖЭ с ДХМ повторяли 9 раз. Дихлорметановые извлечения объединяли и концентрировали под вакуумом при температуре 40 °С до объема 100 мл, получая таким образом фракцию ДХМ. К остатку после экстракции ДХМ прибавляли 200 мл воды, после чего ее подвергали ЖЖЭ, используя 500 мл *n*-бутанола, ЖЖЭ с *n*-бутанолом повторяли 6 раз. Бутанольные извлечения объединяли и упаривали под вакуумом при температуре 60 °С до объема 150 мл – *n*-бутанольная фракция. Водный остаток после экстракции органическими растворителями концентрировали под вакуумом при температуре 60 °С до объема 200 мл.

В результате ВЭЖХ-анализа фракций, полученных после ЖЖЭ, наибольшее разнообразие и количественное содержание вторичных метаболитов было обнаружено в ДХМ фракции. Дихлорметановую фракцию выпаривали на вакуумно-ротационном испарителе до объема 50 мл и хроматографировали на открытой колонке с использованием сорбента Sephadex LH-20. Использовали изократический режим элюирования 96% этиловым спиртом. Субфракции собирали в пробирки объемом до 25 мл, после чего объединяли субфракции по результатам ТСХ анализа в системе БУВ (*n*-бутанол : уксусная кислота : вода) в соотношении 4 : 1 : 2. В результате было получено 17 фракций (Fr Sx1-17). В результате ВЭЖХ-анализа фракции 14 (Fr Sx14), было установлено, что в данной фракции содержится одно мажорное и три примесных соединения, вследствие чего Fr Sx14 была выбрана для дальнейшего выделения из нее индивидуального вещества. Fr Sx14 подвергали препаративной ВЭЖХ, в результате была выделена *n*-кумаровая кислота (**6**) (рис.).

В результате ВЭЖХ-анализа фракции 3 (Fr Sx3) было установлено, что она содержит пять мажорных пиков и четыре примесных соединения, вследствие чего данную фракцию выбрали для дальнейшей очистки при помощи открытой колоночной хроматографии. Фракцию 3 (Fr Sx3) загружали на открытую колонку с сорбентом Sephadex LH-20 и производили изократическое элюирование 96% этиловым спиртом. Субфракции собирали в пробирки объемом до 25 мл, после чего субфракции объединяли по результатам ТСХ анализа в системе БУВ (*n*-бутанол : уксусная кислота : вода) в соотношении 4 : 1 : 2. В результате деления фракции 3 (Fr Sx3) было получено девять фракций (Fr Sx3 Sx1-9). В результате ВЭЖХ-анализа фракции Fr Sx3 Sx4 было установлено, что в ней содержится пять мажорных соединений и отсутствовали примесные соединения, вследствие этого фракция Fr Sx3 Sx4 была выбрана для выделения из нее индивидуальных веществ. Фракцию Fr Sx3 Sx4 подвергали препаративной ВЭЖХ, в результате чего были выделены пектолинарин (**1**), 2'''-ацетилпектолинарин (**2**), 3'''-ацетилпектолинарин (**3**), 4'''-ацетилпектолинарин (**4**) и нарингенин-7-О- β -D-глюкопиранозид (**5**) (рис.).

Для изучения противомикробной и противогрибковой активности выделенные соединения лиофилизировали, измеряли массу сухого остатка и растворяли в необходимом объеме ДМСО. Противогрибковую и антибактериальную активность выделенных соединений определяли микрометодом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде в 96-луночных планшетах [27] в двух повторах. Изучение данного вида биологической активности осуществляли в отношении референтных (типовых) штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* NCTC 885-653. Для приготовления микробной взвеси использовали суточные культуры микроорганизмов, выращенные на питательном агаре (бактерии) и агаре Сабуро (грибы). Концентрация микробных клеток в опыте составила $(2-5) \times 10^5$ КОЕ/мл [27]. Посевы инкубировали в термостате при температуре $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ [28]. Оценку роста проводили визуально через 22–24 ч инкубирования. В качестве положительного контроля использовали питательную среду с внесенной исследуемой культурой. В качестве отрицательного контроля использовали интактную питательную среду. За значение МИК (минимальной ингибирующей концентрации) принимали наименьшую концентрацию соединения, при которой отсутствует определяемый визуально рост тест-организма.

Обсуждение результатов

Соединение **1** представляет собой светло-зеленые кристаллы с двумя УФ максимумами поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 274, 332$ нм (EtOH) характерные для производных флавона. В ^1H ЯМР спектре **1** (табл. 1) присутствовали сигналы ароматических протонов H-3 (6.94 (1H, c), H-8 (6.95 (1H, c), H-2',6' (8.06 (1H, d, $J = 8.9$ Гц) и H-3',5' (8.06 (1H, d, $J = 8.9$ Гц); ароматические метокси группы 6-OMe (3.78 (1H, c)) и 4'-OMe (3.87 (1H, c)); фенольный гидроксил 5-OH (12.96 (1H, brs)) алифатические протоны остатка β -D-глюкопиранозы H-1'' (5.13 (1H, d, $J = 7.1$ Гц)), H-2'' 3.35 (1H, m), H-3'' (3.34 (1H, m)), H-4'' (3.17 (1H, m), H-5'' (3.70 (1H, t, $J = 8.4$ Гц)), H-6a'' (3.55 (1H, m)) и H-6b'' (3.89 (1H, m)); алифатические протоны остатка α -L-рамнопиранозы H-1''' (4.57 (1H, brs)), H-2'''-5''' (3.54–3.77 (4H, m)) и H-6''' (1.08 (3H, d, $J = 6.4$ Hz)). Анализ полученных данных и их сравнение с литературой позволяет сделать вывод, что соединение **1** представляет собой пектолинарин.

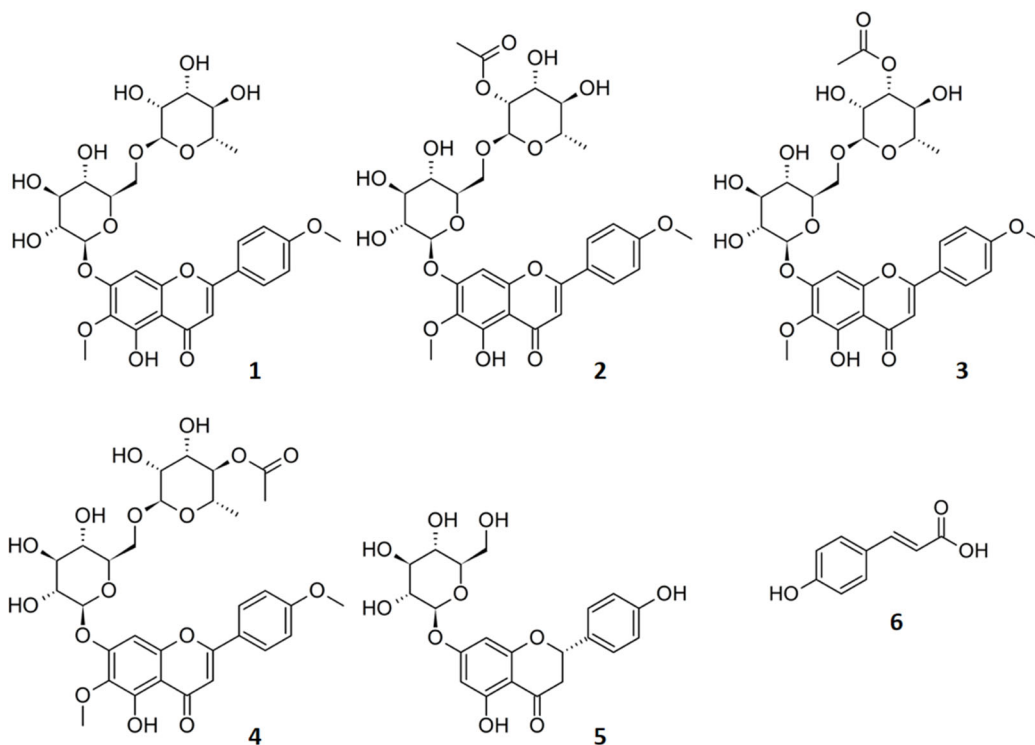
Соединение **2** представляет собой светло-зеленое кристаллическое вещество с двумя УФ максимумами поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 274, 331$ нм (EtOH). ^1H ЯМР спектры **2** и **1** в значительной степени совпадали (табл. 1). В ^1H ЯМР спектре соединения **2** отличались химические сдвиги алифатических протонов остатка α -L-рамнопиранозы H-1''' (4.57 (1H, brs)), H-2''' (4.91 (1H, dd, $J = 3.5, 1.2$ Гц), H-3'''-5''' (3.54–3.77 (3H, m))

и Н-6''' (1.07 (3H, d, $J = 6.4$ Гц)). Сдвиг в область слабого поля сигнала Н-2''' протонов остатка α -L-рамнопиранозы и присутствие в спектре сигнала метильной группы ацетатного остатка 2'''-ОАс (1.94 (3H, c)) указывает на то, что соединение **2** представляет собой 2'''-ацетилпектолинарин (изолинарин А).

Соединение **3** представляет собой светло-зеленые кристаллы, имеющие два УФ максимума поглощения при $\lambda_{\max} = 274, 332$ нм (EtOH). Сравнение ^1H ЯМР спектров **3** и **2** показало, что соединение **3** также является моноацетатным производным пектолинарина (табл. 1). В ^1H ЯМР спектре соединения **3** отличались химические сдвиги алифатических протонов остатка α -L-рамнопиранозы Н-1''' (4.59 (1H, brs)), Н-2''' (3.77 (1H, m)), Н-3''' (4.70 (1H, d, $J = 9.9, 3.2$ Гц)), Н-4''' (3.36 (1H, m)), Н-5''' (3.54 (1H, m)) и Н-6''' (1.08 (3H, d, $J = 6.4$ Гц)). Сдвиг в область слабого поля сигнала Н-3''' протонов остатка α -L-рамнопиранозы, наличие в спектре сигнала метильной группы ацетатного остатка 3'''-ОАс (1.76 (3H, c)) и присутствие НМВС корреляции от Н-3''' к атому углерода сложноэфирной группы ацетатного остатка 3'''-ОАс указывает на то, что соединение **3** представляет собой 3'''-ацетилпектолинарин (изолинарин В).

Соединение **4** представляет собой светло-зеленое кристаллическое вещество с двумя УФ максимумами поглощения при $\lambda_{\max} = 275, 331$ нм (EtOH). Сравнение ^1H ЯМР спектров **4** с **3** и **2** показало, что соединение **4** является моноацетатным производным пектолинарина (табл. 1). В ^1H ЯМР спектре соединения **4** отличались химические сдвиги алифатических протонов остатка α -L-рамнопиранозы Н-1''' (4.61 (1H, brs)), Н-2''' (3.70 (1H, m)), Н-3''' (3.56 (1H, m)), Н-4''' (4.72 (1H, t, $J = 9.7$ Гц)), Н-5''' (3.58 (1H, m)) и Н-6''' (0.87 (3H, d, $J = 6.2$ Гц)). Сдвиг в область слабого поля сигнала Н-4''' протонов остатка α -L-рамнопиранозы, наличие в спектре сигнала метильной группы ацетатного остатка 4'''-ОАс (1.97 (3H, c)) и присутствие НМВС корреляции от Н-4''' к атому углерода сложноэфирной группы ацетатного остатка 4'''-ОАс указывает на то, что соединение **4** представляет собой 4'''-ацетилпектолинарин, также известный как линаринин.

Соединение **5** представляет собой белое кристаллическое вещество с одним УФ максимумом поглощения при $\lambda_{\max} = 282$ и плечом при 327 нм (EtOH). В ^1H ЯМР спектре **5** присутствовали сигналы ароматических протонов Н-6 (6.14 (1H, brs)), Н-8 (6.16 (1H, brs)), Н-2',6' (7.34 (2H, d, $J = 8.7$ Гц)) и Н-3',5' (6.81 (2H, d, $J = 8.7$ Гц)); фенольные гидроксилы 5-OH (12.06 (1H, s)) и 4'-OH (9.60 (1H, s)); алифатические протоны остатка β -D-глюкопиранозы Н-1'' (5.00 (1H, d, $J = 7.6$ Гц)), Н-2''-6a'' (3.10-3.50 (5H, m)) и Н-6b'' (3.67 (1H, brd, $J = 11.4$ Hz)). Анализ полученных данных и их сравнение с литературой позволяет сделать вывод, что соединение **5** представляет собой нарингенин-7-O- β -D-глюкопиранозид (табл. 2).



Структурные формулы соединений 1–6

Таблица 1. ЯМР данные соединений 1–4

№ п/п	1	2	3		4	
	δH (J в Гц)	δH (J в Гц)	δH (J в Гц)	δC	δH (J в Гц)	δC
1	–	–	–	–	–	–
2	–	–	–	164.4	–	164.5
3	6.94 (1H, c)	6.94 (1H, c)	6.94 (1H, c)	103.7	6.95 (1H, c)	103.8
4	–	–	–	182.9	–	182.8
4a	–	–	–	123.3	–	123.2
5	–	–	–	153.0	–	153.0
6	–	–	–	133.0	–	133.2
7	–	–	–	156.8	–	156.9
8	6.95 (1H, c)	6.99 (1H, c)	6.95 (1H, c)	94.6	6.99 (1H, c)	94.9
8a	–	–	–	152.7	–	152.7
1'	–	–	–	106.3	–	106.3
2',6'	8.06 (2H, д, J=8.9)	8.06 (2H, д, J=8.9)	8.04 (2H, д, J=8.9)	128.9	8.05 (2H, д, J=8.9)	128.9
3',5'	7.17 (2H, д, J=8.9)	7.15 (2H, д, J=8.9)	7.12 (2H, д, J=8.9)	114.9	7.15 (2H, д, J=8.9)	115.2
4'	–	–	–	162.9	–	162.9
1''	5.13 (1H, д, J=7.1)	5.16 (1H, д, J=7.3)	5.19 (1H, д, J=7.0)	100.4	5.17 (1H, д, J=7.0)	100.6
2''	3.35 (1H, м)	3.35 (1H, м)	3.35 (1H, м)	73.6	3.35 (1H, м)	73.7
3''	3.34 (1H, м)	3.34 (1H, м)	3.34 (1H, м)	76.8	3.34 (1H, м)	76.9
4''	3.17 (1H, м)	3.17 (1H, м)	3.17 (1H, м)	70.1	3.22 (1H, м)	69.7
5''	3.70 (1H, т, J=8.4)	3.70 (1H, т, J=8.4 Hz)	3.70 (1H, т, J=8.4 Hz)	76.3	3.64 (1H, м)	75.8
6a''	3.89 (1H, м)	3.89 (1H, м)	3.89 (1H, м)	66.2	3.84 (1H, м)	66.0
6b''	3.55 (1H, м)	3.55 (1H, м)	3.55 (1H, м)		3.57 (1H, м)	
1'''	4.57 (1H, уш. c)	4.57 (1H, уш. c)	4.59 (1H, уш. c)	100.5	4.61 (1H, уш. c)	100.4
2'''	3.54–3.77 (4H, м)	4.91 (1H, дл, J=3.5, 1.2)	3.77 (1H, м)	68.2	3.70 (1H, м)	70.8
3'''		3.54–3.77 (4H, м)	4.70 (1H, д, J=9.9, 3.2)	74.8	3.56 (1H, м)	68.7
4'''			3.36 (1H, м)	69.3	4.72 (1H, т, J=9.7)	74.3
5'''			3.54 (1H, м)	68.8	3.58 (1H, м)	66.2
6'''	1.08 (3H, д, J=6.4)	1.07 (3H, д, J=6.4)	1.08 (3H, д, J=6.4)	18.1	0.87 (3H, д, J=6.2)	17.7
5-OH	12.96 (1H, уш. c)	12.96 (1H, уш. c)	12.97 (1H, уш. c)	–	12.95 (1H, уш. c)	–
6-OMe	3.78 (3H, c)	3.78 (3H, c)	3.78 (3H, c)	60.8	3.79 (3H, c)	60.8
4'-OMe	3.87 (3H, c)	3.87 (3H, c)	3.87 (3H, c)	56.0	3.87 (3H, c)	56.0
2'''-OAc	–	1.94 (3H, c)	–	–	–	–
3'''-OAc	–	–	1.76 (3H, c)	21.3	–	–
4'''-OAc	–	–		170.3		
	–	–	–	–	1.97 (3H, c)	21.3
						170.4

Таблица 2. ЯМР данные соединений 5–6

№	5	6
	δH (J в Гц)	δH (J в Гц)
2	5.51 (1H, дт, J=12.7, 3.0)	–
3a	2.75 (1H, дт, J=17.0, 3.0)	–
3b	3.20 (1H, м)	–
6	6.16 (1H, м)	–
7	–	7.49 (1H, д, J=16.0)
8	6.14 (1H, м)	6.29 (1H, д, J=16.0)
2',6'	7.34 (2H, д, J=8.7)	6.79 (2H, д, J=8.6)
3',5'	6.81 (2H, д, J=8.7)	7.51 (2H, д, J=8.6)
1''	5.00 (1H, д, J=7.6)	–
2''-6''a	3.10–3.50 (5H, м)	–
6b''	3.67 (1H, уш. д, J=11.4)	–
4-OH	–	9.97 (1H, c)
5-OH	12.06 (1H, c)	–
4'-OH	9.60 (1H, c)	–
9-COOH	–	12.12 (1H, уш. c)

Соединение **6** представляет собой белые кристаллы с одним УФ максимумом поглощения при $\lambda_{\max} = 309$ нм (EtOH). В ^1H ЯМР спектре **6** (табл. 2) присутствовали сигналы ароматических протонов Н-2,6 (6.79 (2H, d, $J = 8.6$ Гц)), Н-3,5 (7.51 (2H, d, $J = 8.6$ Гц)), Н-7 (7.49 (1H, d, $J = 16.0$ Гц)), Н-8 (6.29 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)); фенольный гидроксил 4-ОН (9.97 (1H, с)); карбоксильной группы COOH (12.12 (1H, уш. с)). Анализ полученных данных и их сравнение с литературой позволяет сделать вывод, что соединение **6** представляет собой *n*-кумаровую кислоту.

В результате изучения противомикробной активности соединений **1–6** в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* установлено, что все соединения обладают низкой антибактериальной и противогрибковой активностью (табл. 3). Однако наиболее сильное антибактериальное и противогрибковое действие было установлено у *n*-кумаровой кислоты, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) которой составляла 1000 и 500 мкг/мл в отношении *S. aureus* и *E. coli*, соответственно, а также 250 мкг/мл в отношении *C. albicans*. МИК всех остальных соединений (**1–5**) была равной или превышала 2500 мкг/мл.

Таблица 3. Минимальные ингибирующие концентрации соединений **1–6** в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*

Названием соединения	Наименование вида / штамма микроорганизма	МИК, мкг/мл
Пектолинарин (1)	<i>S. aureus</i> 6538P ATCC/	2500/2500
	<i>E. coli</i> 25922ATCC/	2500/2500
	<i>C. albicans</i> 885-653 NCTC	2500/1250
2'''-Ацетилпектолинарин (изолинарин А) (2)	<i>S. aureus</i> 6538P ATCC/	>2500
	<i>E. coli</i> 25922ATCC/	>2500
	<i>C. albicans</i> 885-653 NCTC	2500/2500
3'''-Ацетилпектолинарин (изолинарин В) (3)	<i>S. aureus</i> 6538P ATCC/	>2500
	<i>E. coli</i> 25922ATCC/	>2500
	<i>C. albicans</i> 885-653 NCTC	>2500
4'''-Ацетилпектолинарин (линарин) (4)	<i>S. aureus</i> 6538P ATCC/	2500/2500
	<i>E. coli</i> 25922ATCC/	>2500
	<i>C. albicans</i> 885-653 NCTC	2500/2500
Нарингенин-7-О-β-D-глюкопиранозид (5)	<i>S. aureus</i> 6538P ATCC/	2500/2500
	<i>E. coli</i> 25922ATCC/	2500/2500
	<i>C. albicans</i> 885-653 NCTC	2500/1250
<i>n</i> -Кумаровая кислота (6)	<i>S. aureus</i> 6538P ATCC/	1000/1000
	<i>E. coli</i> 25922ATCC/	500/500
	<i>C. albicans</i> 885-653 NCTC	250/250

Выводы

В результате настоящего исследования из травы *L. vulgaris* нами выделен пектолинарин (**1**) и три его ацетильных производных – изолинарин А (**2**), изолинарин В (**3**) и линарин (**4**), а также *n*-кумаровая кислота (**6**). Впервые выделен нарингенин-7-О-β-D-глюкопиранозид (**5**). Изучение противомикробной активности позволило установить, что *n*-кумаровая кислота (**6**) проявляет наиболее выраженное антибактериальное и противогрибковое действие (МИК составила 250, 500 и 1000 мкг/мл для *C. albicans*, *E. coli* и *S. aureus*, соответственно), в то время как соединения **1–5** проявляют низкую активность в отношении всех штаммов с МИК, равной 2500 мкг/мл и более.

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета, Пермской государственной фармацевтической академии и Института эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук. 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. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. СПб; М., 2012. С. 130–133.
2. Бомбела Т.В., Кроткова О.А., Галишевская Е.Е., Анисимова А.Г., Ягонцева Т.А., Агафонцева А.В., Новикова В.В., Уэйли А.К., Понкратова А.О., Лужанин В.Г. Компонентный состав и противомикробная активность фракций из надземной части льнянки обыкновенной (*Linaria vulgaris* Mill.) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2022. Т. 11, №4. С. 48–56. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-48-56](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-48-56).
3. Botalova A., Bombela T., Zubov P., Segal M., Korkotian E. The flavonoid acetylpectolinarin counteracts the effects of low ethanol on spontaneous network activity in hippocampal cultures // Journal of Ethnopharmacology. 2019. Vol. 229. Pp. 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.040>.
4. Кроткова О.А., Бомбела Т.В., Елькина О.В., Коркотян Э.А. Влияние ацетилпектолинарина, выделенного из травы льнянки обыкновенной, на алкогольную интоксикацию у мышей в тесте «вращающийся стержень» // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии: научно-практический журнал. 2022. С. 104–107.
5. Cheriet T., Mancini I., Seghiri R., Benayache F., Benayache S. Chemical constituents and biological activities of the genus *Linaria* (Scrophulariaceae) // Natural Product Research. 2015. Vol. 29(17). Pp. 1589–1613. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.999243>.
6. Men'shikov G.P., Ban'kovski A.I., Frolova V.I. Alkaloids of *Linaria vulgaris* Mill // Russian Journal of General Chemistry. 1959. Vol. 9. Pp. 3846–3848.
7. Hua H., Cheng M., Li X., Pei Y. A new pyrroloquinazoline alkaloid from *Linaria vulgaris* // Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2002. Vol. 50. Pp. 1393–1394. <https://doi.org/10.1248/cpb.50.1393>.
8. Hua H., Piao F., Wang S., Li X., Qiao B., Li P. Study on a new alkaloid of *Linaria vulgaris* // Journal of Shenyang Pharmaceutical University. 1997. Vol. 14. Pp. 219–220.
9. Sokolowska-Wozniak A., Szewczyk K., Nowak R. Phenolic acids from the herb of *Linaria vulgaris* (L.) Mill // Herba Polonica. 2003. Vol. 49. Pp. 161–165.
10. Kelemen L., Seedo C. Data about the polyphenol content of *Linaria vulgaris* Mill species // Note I. Farmacia. 2003. Vol. 51. Pp. 86–89.
11. Hua H., Li X., Xing S.E., Pei Y.H. Chemical constituents of *Linaria vulgaris* // Chinese Pharmaceutical Journal. 2005. Vol. 40. Pp. 653–656.
12. Klobb T. Two new glucosides: linarine and pectolinarine // Comptes Rendus Chimie. 1907. Vol. 145. Pp. 331–334.
13. Handjieva N.V., Ilieva E.I., Spassov S.L., Popov S.S. Iridoid glycosides from *Linaria* species // Tetrahedron. 1993. Vol. 49. Pp. 9261–9266. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(93\)80012-I](https://doi.org/10.1016/0040-4020(93)80012-I).
14. Wagner H., Aurnhammer G., Hoerhammer L., Farkas L. Acacetin glycosides. II. Identity comparison of acaciin from *Robinia pseudoacacia* and linarin from *Linaria vulgaris* // Chemische Berichte. 1969. Vol. 102. Pp. 1445–1446.
15. Morita N., Shimizu M., Arisawa M., Kobayashi K. Medicinal resources. 37. Components of leaves of *Linaria japonica* and *L. vulgaris* (Scrophulariaceae) // Journal of Pharmaceutical Science. 1975. Vol. 94. Pp. 913–916. https://doi.org/10.1248/yakushi1947.94.8_913.
16. Sticher O. Isolation of antirrhinoside from *Linaria vulgaris* // Phytochemistry. 1971. Vol. 10. Pp. 1974–1975. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86487-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86487-0).
17. Guiso M., Tassone G., Nicoletti M., Serafini M., Bianco A. Chemotaxonomy of iridoids in *Linaria vulgaris* // Natural Product Research. 2007. Vol. 21. Pp. 1212–1216. <https://doi.org/10.1080/14786410701536403>.
18. Ilieva E.I., Handjieva N.V., Popov S.S. Iridoid glucosides from *Linaria vulgaris* // Phytochemistry. 1992. Vol. 31. Pp. 1040–1041. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80068-P](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80068-P).
19. Mishra A., Sharma A., Kumar S., Saxena A., Pandey A. Bauhinia variegata leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities // BioMed Research International. 2013. Vol. 2013. Pp. 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/915436>.
20. Yadav R., Agarwala M. Phytochemical analysis of some medicinal plants // Journal of Phytology. 2011. Vol. 3. Pp. 10–14.
21. Уэйли А.К., Уэйли А.О., Новикова В.В., Васильев В.О., Клемпер А.В., Лукашов Р.И., Мандрик Н.И., Гуркина Н.С., Яковлев Г.П., Лужанин В.Г. Скрининг противомикробной и антиоксидантной активности шляпочных грибов, произрастающих в Ленинградской области // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2023. Т. 12, №4. С. 111–125. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1576>.
22. WHO. Antimicrobial Resistance. World Health Organization; Geneva, Switzerland, 2014.
23. Baym M., Stone L., Kishony R. Multidrug evolutionary strategies to reverse antibiotic resistance // Science. 2016. Vol. 351. <https://doi.org/10.1126/science.aad3292>.
24. Shamsudin N.F., Ahmed Q.U., Mahmood S., Ali Shah S.A., Khatib A., Mukhtar S., Alsharif M.A., Parveen H., Zakaria Z.A. Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: a comparative interpretation // Molecules. 2022. Vol. 27(4). 1149. <https://doi.org/10.3390/molecules27041149>.

25. Manso T., Lores M., de Miguel T. Antimicrobial activity of polyphenols and natural polyphenolic extracts on clinical isolates // *Antibiotics*. 2021. Vol. 11(1). 46. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010046>.
26. Лужанин В.Г., Уэйли А.К., Понкратова А.О., Новикова В.В., Безверхняя Е.А. Противомикробная активность соединений полифенольной природы // *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022. Т. 11, №2. С. 65–72. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-65-72>.
27. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических лекарственных средств. Часть первая. М., 2012. 944 с.
28. Новикова В.В., Якимова Е.В., Горбушина А.Д. Исследование новых продуктов органического синтеза на противогрибковую активность в отношении дрожжевых грибов: обоснование выбора условий испытаний // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2022. Т. 3. С. 105–112.

Поступила в редакцию 12 февраля 2024 г.

После переработки 18 марта 2024 г.

Принята к публикации 7 мая 2024 г.

Whaley A.K.^{1*}, Whaley A.O.^{1,2}, Bombela T.V.³, Krotkova O.A.³, Chashchina A.S.³, Novikova V.V.³, Vasiliev V.O.³, Luzhanin V.G.³ ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SECONDARY METABOLITES ISOLATED FROM THE TOADFLAX HERB (*LINARIA VULGARIS* MILL.)

¹ Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, Prof. Popova st., 14A, Saint Petersburg, 197376, Russia, 9968639@gmail.com

² I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Thoreza av., 44, Saint Petersburg, 194223, Russia

³ Perm State Pharmaceutical Academy, Ekaterinskaya st., 110, Perm, 614990, Russia

The widespread and inappropriate use of antibiotics has led to the emergence of new multidrug-resistant (MDR) strains of microorganisms, rendering many currently available drugs ineffective. Thus, there is a growing need to develop new antimicrobial agents that can reduce antibiotic use and counter the development of resistance. According to previous studies, polyphenols are able to exhibit pronounced antimicrobial activity. *Linaria vulgaris* Mill. is one of the promising representatives of the genus *Linaria*, the chemical composition of which is represented by such classes of metabolites as phenolic acids, flavonoids, phenolic glycosides, alkaloids and iridoids. As a result of the present study, 6 compounds belonging to the classes of flavonoids and phenolic acids were isolated from the herb *L. vulgaris*, and their activity against *S. aureus*, *C. albicans* and *E. coli* was studied. Among all the isolated compounds, *p*-coumaric acid showed the greatest antimicrobial activity, the minimum inhibitory concentration (MIC) of which was 250, 500 and 1000 µg/ml against *C. albicans*, *E. coli* and *S. aureus*, respectively.

Keywords: *Linaria vulgaris*, toadflax, polyphenols, flavonoids, phenolic acids, antibacterial activity, antifungal activity, pectolinarin, *p*-coumaric acid.

For citing: Whaley A.K., Whaley A.O., Bombela T.V., Krotkova O.A., Chashchina A.S., Novikova V.V., Vasiliev V.O., Luzhanin V.G. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 4, pp. 287–296. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240414795.

References

1. *Rastitel'nyye resursy Rossii: Dikorastushchiye tsvetkovyye rasteniya, ikh komponentnyy sostav i biologicheskaya aktivnost'*. [Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their component composition and biological activity]. St. Petersburg; Moscow, 2012, pp. 130–133. (in Russ.).
2. Bombela T.V., Krotkova O.A., Galishevskaya Ye.Ye., Anisimova A.G., Yagontseva T.A., Agafontseva A.V., Novikova V.V., Ueyli A.K., Ponkratova A.O., Luzhanin V.G. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2022, vol. 11, no. 4, pp. 48–56. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-48-56](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-48-56). (in Russ.).
3. Botalova A., Bombela T., Zubov P., Segal M., Korkotian E. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, vol. 229, pp. 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.040>.
4. Krotkova O.A., Bombela T.V., Yel'kina O.V., Korkotyan E.A. *Vestnik Permskoy gosudarstvennoy farmatsevticheskoy akademii: Nauchno-prakticheskiy zhurnal*, 2022, pp. 104–107. (in Russ.).
5. Cheriet T., Mancini I., Seghiri R., Benayache F., Benayache S. *Natural Product Research*, 2015, vol. 29(17), pp. 1589–1613. <https://doi.org/10.1080/14786419.2014.999243>.
6. Men'shikov G.P., Ban'kovski A.I., Frolova V.I. *Russian Journal of General Chemistry*, 1959, vol. 9, pp. 3846–3848.

* Corresponding author.

7. Hua H., Cheng M., Li X., Pei Y. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2002, vol. 50, pp. 1393–1394. <https://doi.org/10.1248/cpb.50.1393>.
8. Hua H., Piao F., Wang S., Li X., Qiao B., Li P. *Journal of Shenyang Pharmaceutical University*, 1997, vol. 14, pp. 219–220.
9. Sokolowska-Wozniak A., Szewczyk K., Nowak R. *Herba Polonica*, 2003, vol. 49, pp. 161–165.
10. Kelemen L., Scedo C. *Note I. Farmacia*, 2003, vol. 51, pp. 86–89.
11. Hua H., Li X., Xing S.E., Pei Y.H. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2005, vol. 40, pp. 653–656.
12. Klobb T. *Comptes Rendus Chimia*, 1907, vol. 145, pp. 331–334.
13. Handjieva N.V., Ilieva E.I., Spassov S.L., Popov S.S. *Tetrahedron*, 1993, vol. 49, pp. 9261–9266. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(93\)80012-I](https://doi.org/10.1016/0040-4020(93)80012-I).
14. Wagner H., Aurnhammer G., Hoerhammer L., Farkas L. *Chemische Berichte*, 1969, vol. 102, pp. 1445–1446.
15. Morita N., Shimizu M., Arisawa M., Kobayashi K. *Journal of Pharmaceutical Science*, 1975, vol. 94, pp. 913–916. https://doi.org/10.1248/yakushi1947.94.8_913.
16. Sticher O. *Phytochemistry*, 1971, vol. 10, pp. 1974–1975. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86487-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86487-0).
17. Guiso M., Tassone G., Nicoletti M., Serafini M., Bianco A. *Natural Product Research*, 2007, vol. 21, pp. 1212–1216. <https://doi.org/10.1080/14786410701536403>.
18. Ilieva E.I., Handjieva N.V., Popov S.S. *Phytochemistry*, 1992, vol. 31, pp. 1040–1041. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)80068-P](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)80068-P).
19. Mishra A., Sharma A., Kumar S., Saxena A., Pandey A. *BioMed Research International*, 2013, vol. 2013, pp. 1–10. <https://doi.org/10.1155/2013/915436>.
20. Yadav R., Agarwala M. *Journal of Phytology*, 2011, vol. 3, pp. 10–14.
21. Ueyli A.K., Ueyli A.O., Novikova V.V., Vasil'yev V.O., Klemper A.V., Lukashov R.I., Mandrik N.I., Gurina N.S., Yakovlev G.P., Luzhanin V.G. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2023, vol. 12, no. 4, pp. 111–125. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4-1576>. (in Russ.).
22. WHO. *Antimicrobial Resistance*. World Health Organization; Geneva, Switzerland, 2014.
23. Baym M., Stone L., Kishony R. *Science*, 2016, vol. 351. <https://doi.org/10.1126/science.aad3292>.
24. Shamsudin N.F., Ahmed Q.U., Mahmood S., Ali Shah S.A., Khatib A., Mukhtar S., Alsharif M.A., Parveen H., Zakaria Z.A. *Molecules*, 2022, vol. 27(4), 1149. <https://doi.org/10.3390/molecules27041149>.
25. Manso T., Lores M., de Miguel T. *Antibiotics*, 2021, vol. 11(1), 46. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010046>.
26. Luzhanin V.G., Ueyli A.K., Ponkratova A.O., Novikova V.V., Bezverkhnyaya Ye.A. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2022, vol. 11, no. 2, pp. 65–72. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-65-72>. (in Russ.).
27. Mironov A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya*. [Guidelines for the implementation of preclinical drugs. Part one]. Moscow, 2012, 944 p. (in Russ.).
28. Novikova V.V., Yakimova Ye.V., Gorbushina A.D. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya*, 2022, vol. 3, pp. 105–112. (in Russ.).

Received February 12, 2024

Revised March 18, 2024

Accepted May 7, 2024

Сведения об авторах

Уэйли Андрей Кеннет – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, 9968639@gmail.com

Уэйли Анастасия Олеговна – кандидат фармацевтических наук, младший научный сотрудник кафедры фармакогнозии, старший научный сотрудник лаборатории клеточных механизмов гомеостаза крови, anastasiya.ponkratova@yandex.ru

Бомбела Татьяна Владимировна – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры ботаники и фармацевтической биологии, tatyana.bombela@yandex.ru

Кроткова Ольга Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры ботаники и фармацевтической биологии, krotkovaola@yandex.ru

Чащина Александра Сергеевна – лаборант кафедры ботаники и фармацевтической биологии, shashach009@gmail.com

Новикова Валентина Васильевна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой микробиологии, vvnperm@yandex.ru

Васильев Виталий Олегович – аспирант, i@vitbioz.ru

Лужанин Владимир Геннадьевич – кандидат биологических наук, доцент, ректор, заведующий кафедрой ботаники и фармацевтической биологии, vladimir.luzhanin@pharminnotech.com

Information about authors

Whaley Andrey Kenneth – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, 9968639@gmail.com

Whaley Anastasia Olegovna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Junior Researcher of the Department of Pharmacognosy, Senior Researcher of the Laboratory of Cellular Mechanisms of Blood Homeostasis, anastasiya.ponkratova@yandex.ru

Bombela Tatyana Vladimirovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Botany and Pharmaceutical Biology, tatyana.bombela@yandex.ru

Krotkova Olga Aleksandrovna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Botany and Pharmaceutical Biology, krotkovaola@yandex.ru

Chaschina Alexandra Sergeevna – Laboratory Assistant of the Department of Botany and Pharmaceutical Biology, shashach009@gmail.com

Novikova Valentina Vasilievna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Head of the Department microbiology, vvnperm@yandex.ru

Vasiliev Vitaly Olegovich – postgraduate student, i@vitbioz.ru

Luzhanin Vladimir Gennadievich – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Rector, Head of the Department of Botany and Pharmaceutical Biology, vladimir.luzhanin@pharminnotech.com