

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНОЙ И АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭФИРНОГО МАСЛА ИССОПА ЛЕКАРСТВЕННОГО

Мацукевич Е.И. (4 курс, фармацевтический факультет), Кузнецова О.А. (к.б.н., доцент кафедры организации фармации), Циркунова Ж.Ф. (к.б.н., заведующий лабораторией внутрибольничных инфекций)

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Аннотация. Целью работы являлось исследование антимикробной и антифунгальной активности эфирного масла (ЭМ) иссопа лекарственного. Получение эфирного масла иссопа лекарственного проводилось путем перегонки с водяным паром с помощью прибора Гинзберга. Антибактериальная активность эфирных масел в отношении тест-штаммов типовых стандартных культур микроорганизмов определялась методом диффузии эфирного масла из лунок агара. Нами установлено, что ЭМ иссопа лекарственного обладает высокой антифунгальной активностью в отношении грибов р. *Candida*. Антибактериальная активность в отношении грамположительных культур требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: иссоп лекарственный, эфирное масло, антимикробная активность, антифунгальная активность.

Введение. Трава иссопа лекарственного включена в фармакопеи ряда Европейских стран (Румыния, Франция, Португалия, Германия, Швеция), но в Беларуси и странах СНГ он не является фармакопейным растением и в официальной медицине пока не применяется. В народной медицине эфирное масло иссопа лекарственного давно применяется при заболеваниях верхних дыхательных путей, при бронхитах, как антигистаминное и ранозаживляющее средство. Также в литературе имеются некоторые данные о его противовоспалительном, антимикробном, противоопухолевом и иммуностимулирующем действии.

В мире активно проводятся исследования, направленные на поиск новых, альтернативных лекарственных средств противогрибкового действия, в том числе и растительного происхождения, так как растительные биологически активные вещества характеризуются ярко выраженным фармакологическим действием, часто превосходящем по силе синтетические аналоги, низкой

степенью токсичности и минимальными побочными эффектами. Поэтому изучение антимикробной и антимикотической активности иссопа лекарственного является перспективным направлением и представляет научный и практический интерес.

Цель исследования. Целью настоящей работы является количественное определение эфирного масла в иссопа лекарственного траве, выращенного в Республике Беларусь и сравнение антимикробной и антифунгальной активности ЭМ иссопа лекарственного с эфирными маслами растений родственных видов.

Материалы и методы. Для извлечения эфирного масла использовалось трава культивируемого в Республике Беларусь иссопа лекарственного, выращенного на экспериментально-опытном участке «Новое поле» Белорусского государственного медицинского университета. Воздушно-сухое растительное сырье получено из надземных частей растений, собранных в 2022 году согласно правилам сбора и сушки лекарственных растений.

Для определения антимикробной и антифунгальной активности были использованы 100% натуральные эфирные масла исследуемых растений, полученные методом паровой дистилляции от производителя Агрофирма «Тургеневская». Для сравнения были выбраны родственные иссопу лекарственному виды из семейства Lamiaceae: *Salvia officinalis* и *Lavandula angustifolia*.

Получение эфирного масла *Hyssopus officinalis* L. проводили путем перегонки с водяным паром с помощью прибора Гинзберга [1].

Для определения антимикробной активности эфирных масел были выбраны тест-штаммы типовых стандартных культур микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* (код американской коллекции типовых культур (ATCC) 6538), *Escherichia coli* (код ATCC 11229), *Klebsiella pneumoniae* (код ATCC 70060), *Pseudomonas aeruginosa* (код ATCC 15442), *Candida albicans* (код ATCC 10231), чашки Петри с мясопептонным агаром.

Антибактериальную и антифунгальную активность эфирных масел определяли методом диффузии эфирного масла из лунок агара.

Для изучения антимикотической и антибактериальной активности готовили суспензию из суточной культуры микроорганизмов, выращенной на скошенной агаризованной среде. К агаровой культуре микроорганизмов в пробирке добавляли 5 мл стерильного физиологического раствора комнатной температуры и встряхивали в шейкере. Взвесь микроорганизмов помещали в стерильную пробирку, повторно встряхивали и определяли мутность с помощью денситометра. Была установлена концентрация микроорганизмов $1 \cdot 10^8$ клеток на миллилитр. Далее выполняли серийные разведения полученной стандартной суспензии. 1 мл суспензии трижды последовательно разводили в 9 мл стерильного физиологического раствора до получения суспензии тест-культур с концентрацией микроорганизмов $1 \cdot 10^5$ клеток на миллилитр.

На втором этапе осуществили посев 1 мл полученной суспензии микроорганизмов на просушенные чашки Петри с мясопептонным агаром.

После того, как суспензия впиталась, в агаре вырезали лунки с помощью просечки. В лунки помещали одинаковое количество (80 мкл) эфирного масла шалфея лекарственного, лаванды узколистной, иссопа лекарственного и воды для контроля. Посевы инкубировали в термостате при 30°C в течение 24 часов.

Результат учитывали по наличию и диаметру зон ингибирования или разрежения роста на фоне тёмной, неотражающей свет поверхности с помощью линейки.

Результаты исследования. В круглодонную колбу аппарата Гинзберга помещали навеску измельчённого лекарственного растительного сырья массой 20 грамм и 250 миллилитров воды. Процесс перегонки эфирного масла из сырья иссопа лекарственного происходил в течение одного часа. Полученный объем ЭМ измеряли и рассчитывали, как процент от веса исходного сырья (объемно-весовой) (рис.1):

$$x = \frac{V * 100 * 100}{m * (100 - w)}, \quad x = \frac{0,075 * 100 * 100}{20 * (100 - 14)} = 0,44\%$$

где V – объём эфирного масла, мл; m – масса сырья, г; w – потеря в массе при высушивании, %.

Рисунок 1. Формула расчета

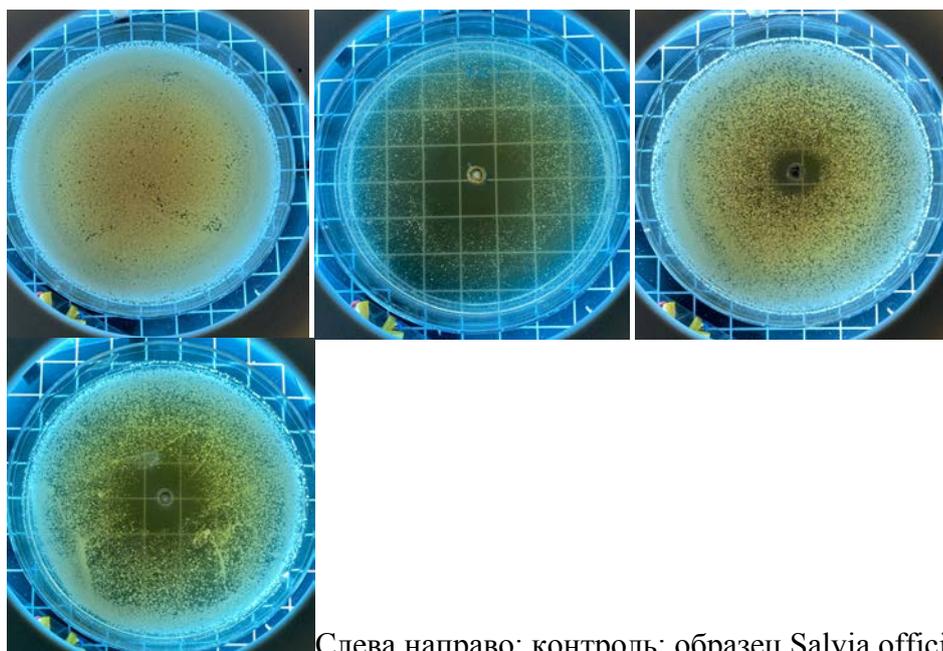
Количественное содержание ЭМ в траве иссопа лекарственного, выращенного в Минском районе, составило 0,44 %. Это значение согласуется с литературными данными, согласно которым выход эфирного масла в среднем из высушенного лекарственного растительного сырья иссопа лекарственного составляет 0,3-0,8% [2].

При изучении антимикробной и антимикотической активности по истечении суток культивирования на чашках Петри с *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* не было обнаружено зон ингибирования роста. На чашке с *Klebsiella pneumoniae* обнаружена зона разрежения роста. На чашках с *Staphylococcus aureus* был обнаружен остаточный рост микроорганизмов, культура *Candida albicans* не дала колоний. Данные результаты могли быть следствием бактерицидного действия всех эфирных масел на грамположительные бактерии и отсутствием данного действия на грамотрицательные микроорганизмы.

Для получения более точных результатов был проведён 2 этап опыта, использовались только культуры грамположительных микроорганизмов, а эфирное масло было взято в меньшем количестве (50 и 20 мкл). Спустя сутки было зафиксировано отсутствие роста на всех чашках Петри.

Последним этапом опыта было проведение эксперимента по описанной выше схеме с использованием культур *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*. На каждой чашке Петри вырезалась только 1 лунка с 1 видом ЭМ в количестве 50 мкл. Также были поставлены контрольные эксперименты без лунки, для доказательства роста микроорганизмов в отсутствии образца эфирного масла. На чашках со *Staphylococcus aureus* не было обнаружено зон ингибирования.

Все исследуемые образцы дали зоны ингибирования роста на чашках с *Candida albicans* (рис.2).



Слева направо: контроль; образец *Salvia officinalis*; образец *Lavandula angustifolia*; образец *Hyssopus officinalis*

Рисунок 2. Результаты опыта с тест-культурой *Candida albicans*

Исходя из результатов опыта можно сделать вывод об отсутствии антибактериальной активности изученных образцов эфирных масел в отношении типовых культур *E. coli* и *Ps. aeruginosa*. Образец эфирного масла лаванды узколистной вызвал неполное ингибирование роста культуры *Kl. pneumoniae*. Результаты опыта в отношении культуры *S. aureus* требуют дальнейшего исследования.

Нами была установлена высокая антифунгальная активность всех изученных образцов в отношении *C. albicans* (табл.1).

Таблица 1. Антифунгальная активность эфирных масел в отношении *Candida albicans*

Тест-культуры бактерий	Диаметр зоны ингибирования роста/разрежения роста*, см		
	эфирное масло <i>Hyssopus officinalis</i>	эфирное масло <i>Salvia officinalis</i>	эфирное масло <i>Lavandula angustifolia</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+-	-	1,7*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	2,5/3	3/7	1,5

Заключение. Сырье иссопа лекарственного, выращенное и заготовленное летом 2022 года на экспериментально-опытном участке «Новое поле» содержит достаточно высокое количество эфирного масла в сравнении с растениями, выращенными в соседних странах.

Антибактериальная активность в отношении грамположительных культур требует дальнейшего более детального изучения.

Эфирное масло иссопа лекарственного обладает высокой антифунгальной активностью. Также антимикотическая активность против грибов *C. albicans* была установлена для ЭМ шалфея и лаванды. В порядке возрастания степени

выраженности антимикотического эффекта эфирные масла располагаются следующим образом: «Шалфей»>«Иссоп»>«Лаванда».

Установленные значения количества ЭМ и его выраженная антимикотическая активность показывают целесообразность культивирования иссопа лекарственного в Республике Беларусь и возможность его дальнейших исследований для использования в разработке лекарственных препаратов с противогрибковым действием.

Список литературы:

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь (ГФ РБ II): Разработана на основе Европейской фармакопеи: в 2 т. Т. 1. Общие методы контроля качества лекарственных средств / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А.А. Шерякова – Молодечно: тип. «Победа», 2012. – 1220 с.

2. Особенности компонентного состава эфирного масла иссопа лекарственного [Электронный ресурс] – Режим доступа <https://elib.belstu.by/handle/123456789/22853> – Дата доступа: 19.03.2023.

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ «ВИТЕБСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**«СТУДЕНЧЕСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ НАУКА
XXI ВЕКА»**

*XXIII Международная научно-практическая конференция
студентов и молодых ученых*

26-27 октября 2023 г.

Витебск, 2023