УДК 582:615.281.9

КИПРЕЙ УЗКОЛИСТНЫЙ – ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Лукашук С.П., Сергеева Е.Б., Папаяни А.В.

Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: Sergeeva.12006@yandex.ru

Цель исследования — фитохимическое изучение биологически активных веществ травы кипрея узколистного, их качественное и количественное определение и установление микробиологической активности. Качественное и количественное определение биологически активных веществ проводили с использованием методов Государственной фармакопеи XV издания. В работе использовали клинические штаммы *Escherichia coli 19. Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa 22, Staphylococcus aureus 31, Candida albicans SG, Candida tropicalis.* Для культивирования микроорганизмов использовали наборы коммерческих реагентов (питательные среды): мясопептонный бульон, среда Гивенталя — Ведьминой, среда Сабуро. В результате данного эксперимента проведены качественные реакции для обнаружения основных групп биологически активных веществ — флавоноидов и дубильных веществ, что позволяет проводить диагностику данного растения, а также установлено количественное содержание: дубильных веществ — 14,32% (в пересчете на абсолютно сухое сырье), флавоноидов — 0,89%. Для водного извлечения, полученного из травы кипрея узколистного, установлена противомикробная активность, сопоставимая с действием извлечения из листьев шалфея лекарственного и даже превосходящая его в отношении *Escherichia coli 19, Pseudomonas aeruginosa 22*. Это позволяет рекомендовать использование кипрея узколистного в качестве противомикробного средства.

Ключевые слова: кипрей узколистный, флавоноиды, дубильные вещества, противомикробная активность

NARROW-LEAVED CYPRESS IS A SOURCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

Lukashuk S.P., Sergeeva E.B., Papayani A.V.

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Pyatigorsk, e-mail: Sergeeva.12006@yandex.ru

The purpose of the study: phytochemical study of biologically active substances of aqueous extraction from the herb of narrow-leaved cypress, their quantitative determination and establishment of microbiological activity. Phytochemical study of biologically active substances of narrow-leaved cypress grass, their qualitative and quantitative determination and establishment of microbiological activity. Clinical strains of Escherichia coli 19, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa 22, Staphylococcus aureus 31, Candida albicans SG, Candida tropicalis were used in the work. Commercial reagent kits (nutrient media) were used for the cultivation of microorganisms: meat peptone broth, Givental's environment is a witch's, Saburo medium. As a result of this experiment, qualitative reactions were carried out to detect the main groups of biologically active substances: flavonoids and tannins, which makes it possible to diagnose this plant, and their quantitative content was established: tannins content of 14.32% (in terms of absolute dry raw materials), flavonoids – 0.89%. For the aqueous extraction obtained from the herb Cypress, antimicrobial activity has been established, comparable to the effect of extraction from medicinal sage leaves, and even superior to Escherichia coli 19, Pseudomonas aeruginosa 22. This allows us to recommend the use of narrow-leaved cypress as an antimicrobial agent.

Keywords: narrow-leaved cypress, flavonoids, tannins, antimicrobial activity

Введение

Кипрей узколистный (*Chamaenrion* angustifolium L.), также известный под народным наименованием иван-чай, является представителем семейства Кипрейные (Onagraceae) — это растения, которые могут достигать высоты от 50 до 120 см, а некоторые индивидуумы вырастают и до 200 см. У них прямостоящий стебель с округлым поперечным сечением, на котором располагается значительное количество листьев. Листья преимущественно сидячие, располагаются поочередно, в редких случаях обладают короткими черешками; форма

листовой пластинки заостренная. Цветки, окрашенные в лилово-пурпурные тона, собраны в удлиненные кистевидные соцветия. Корневая система стержневого типа, имеются горизонтальные утолщенные корни. Плод — коробочка, имеющая опушение и изогнутую конфигурацию; семена не имеют опушения и обладают способностью к распространению на значительные дистанции. Созревание плодов отмечается в конце лета — начале осени. На территории Российской Федерации ареал вида охватывает преимущественно нечерноземную зону. Значительные площади данный вид

занимает в регионах Кавказа, Урала и Алтая [1]. Это растение предпочитает хорошо освещенные места, такие как опушки смешанных и хвойных лесов, осущенные болота, железнодорожные насыпи, берега карьеров и оврагов, а также лесные ручьи. Оно является характерным элементом растительных сообществ на участках, где проводились лесозаготовки и возникли вырубки, сохраняясь на этих территориях до десяти лет, после чего его место занимают такие виды, как малина и таволга [2, 3].

Экстракты, получаемые из надземной части кипрея узколистного, находят применение в официальной и традиционной медицине, включая использование при терапии онкологических патологий; для них характерно проявление бактерицидной, антиоксидантной, противоопухолевой, противовирусной и желчегонной активности [4]. Кипрей узколистный представляет собой ценный источник витаминов и эссенциальных микроэлементов, которые играют важную роль в окислительновосстановительных процессах, ствуют повышению иммунного статуса, оказывают влияние на процессы гемопоэза и активность витаминов в организме, а также обладают существенным значением в контексте терапии заболеваний крови и атеросклероза [5]. Это растение успокаивает нервную систему, и, хоть его седативные свойства немного слабее, чем у валерианы, кипрей обладает противосудорожным эффектом, который отсутствует у валерианы [6]. Водные и углекислотные экстракты растения показывают антигипоксические свойства. Кипрей помогает регулировать настроение, снижает агрессивность, выполняет функцию стресспротектора и оказывает легкий успокаивающий эффект. [7]. Согласно данным научной литературы, в различных органах кипрея узколистного установлено присутствие широкого спектра биологически активных веществ (БАВ). Корневища характеризуются содержанием углеводов (крахмал, слизи в количестве 15%, сахара, пектин), алкалоидов (0,1%), дубильных веществ (в диапазоне 3-20%), фенолкарбоновых кислот (представленных галловой кислотой), флавоноидов, жирного масла и танина (концентрация до 20 мг%). Стебли аккумулируют дубильные вещества в количестве 4-6%. В цветках обнаруживаются следовые концентрации алкалоидов, аскорбиновая кислота (витамин С) и дубильные вещества. В лепестках содержатся антоцианы. Пыльца является источником высших жирных кислот (линолевой и пальмитиновой). В плодах обнаруживаются флавоноиды (кемпферол, кверцетин,

мирицетин). В источниках отечественной и зарубежной научной литературы представлены сведения о наличии в надземной части (траве) кипрея узколистного комплекса активных компонентов: фенилпропаноиды и фенолкарбоновые кислоты, а именно хаменериевая кислота, феруловая и кофейная кислоты, 3-О-кофеилхинная и 5-о-кофеилхинная кислоты; флавоноиды в гликозилированной и свободной формах, преимущественно являющиеся производными кемпферола [8, 9].

В рамках данного экспериментального исследования было использовано растительное сырье, заготовленное в Даутском ущелье Карачаево-Черкесской Республики. Значительно разнообразный химический состав кипрея узколистного в сочетании с его широким спектром фармакологического действия позволяет выдвинуть предположение о том, что кипрей узколистный может служить перспективным растительным сырьевым источником для разработки лекарственных средств различной фармакологической направленности, включая таковые с антимикробной активностью [10].

Цель исследования — фитохимическое изучение биологически активных веществ травы кипрея узколистного, их качественное и количественное определение и установление микробиологической активности.

Материалы и методы исследования

Качественный и количественный анализ БАВ осуществляли в соответствии с методологическими подходами, изложенными в Государственной фармакопее Российской Федерации XV издания [11, 12]. Содержание флавоноидов определялось с использованием спектрофотометрического метода, основанного на реакции с хлоридом алюминия, а измерения проводились с помощью спектрофотометра СФ-2000. Взаимодействие флавоноидов с этим соединением приводит к образованию комплексов, что вызывает батохромное смещение полосы поглощения в ультрафиолетовой области спектра. Это смещение фиксируется как максимум абсорбции в диапазоне 380-420 нм, что позволяет избежать влияния других интерферентных веществ. Для количественного определения дубильных веществ применялся перманганатометрический метод. Согласно данному методу процентное содержание дубильных веществ, приведенное к абсолютно сухому сырью, вычисляется по формуле, в которой учитываются объем раствора перманганата калия, использованный для титрования образца, объем раствора, затраченный в контрольном эксперименте, количество

дубильных веществ, соответствующее 1 мл перманганата калия, масса пробного сырья и его влажность.

В исследовании были задействованы следующие клинические изоляты (штаммы) микроорганизмов: Escherichia coli 19, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa 22, Staphylococcus aureus 31, Candida albicans SG, Candida tropicalis. Указанные тест-культуры микроорганизмов были предоставлены сотрудниками лаборатории микробиологии ФГБУ «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Астрахань). Для культивирования микроорганизмов применяли коммерчески доступные наборы реагентов (питательные среды): мясопептонный бульон, агар Гивенталя – Ведьминой (АГВ), используемый для оценки антибактериальной активности методом диффузии в агар, и среда Сабуро (производства ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», г. Санкт-Петербург, Россия). Приготовление инокулята тест-штаммов проводили из суточной культуры, выращенной в мясопептонном бульоне. Полученные микробные культуры подвергали центрифугированию, отмывке клеток физиологическим раствором и последующему удалению надосадочной жидкости. Из осажденных клеток готовили суспензию, стандартизованную до оптической плотности, соответствующей 0,5 ед. по стандарту мутности McFarland. Далее, чашки Петри, содержащие по 20 мл соответствующей питательной среды (АГВ для бактериальных культур или среда Сабуро для дрожжеподобных грибов), инокулировали сплошным газоном с использованием стерильного тампона, пропитанного стандартизованной суспензией тест-культуры. После 30-минутной подсушки в термостате, в агаре чашек Петри стерильным сверлом (6 мм) формировали лунки, расположенные на расстоянии 2,5 см от центра и равномерно распределенные. В каждую лунку вносили 0,05 мл исследуемого образца. Инкубацию проводили в термостате при 37 °C в течение 18-24 ч. По завершении инкубационного периода проводили измерение диаметров зон ингибирования роста микроорганизмов вокруг исследуемых объектов (лунок), включая диаметр самой лунки. Каждый эксперимент по оценке антимикробной активности выполняли не менее чем в шести повторностях [13]. В качестве препарата сравнения (положительного контроля) использовали водное извлечение из листьев шалфея лекарственного (ООО «ПКФ Фитофарм», Россия). Статистический анализ полученных экспериментальных данных выполняли с применением программного пакета BioStat-2009.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования было выполнено качественное и количественное определение содержания дубильных веществ и флавоноидов, а также их идентификация с использованием хроматографических методов [14, 15]. По результатам проведенного анализа присутствие флавоноидов было подтверждено посредством качественных реакций, в частности цианидиновой пробы. Для обнаружения дубильных веществ применяли реакцию с раствором железоаммонийных квасцов, в ходе которой наблюдалось формирование черно-синего окрашивания. Спектрофотометрический метод был использован для количественного определения флавоноидов. На полученном спектре четко визуализируется максимум светопоглощения при длине волны 420 нм, что является свидетельством присутствия рутина в исследуемом растительном сырье.

Полученный экстракт фильтровали с помощью бумаги, выбрасывая первые 10 мл фильтрата, который обозначался как раствор А. Затем 2 мл раствора А переносили в мерную колбу и добавляли 2 мл 2%-ного раствора хлорида алюминия, приготовленного на 70%-ном этаноле, и 0,1 мл разбавленной уксусной кислоты. Объем раствора доводили до калибровочной метки 70%-ным этанолом и оставляли на 30 мин для развития окраски, получив раствор Б. Оптическую плотность раствора Б измеряли с помощью спектрофотометра при длине волны 420 нм, используя кювету с оптическим путем 10 мм. В качестве сравнения (бланка) использовали исходный экстракт (раствор А) без добавления хлорида алюминия. Содержание флавоноидов вычисляли в пересчете на рутин, учитывая массу исходного сырья и потери при сушке. Для определения содержания дубильных веществ использовали перманганатометрический метод, следуя фармакопейной инструкции [11]. Около 2 г измельченного растительного материала (прошедшего через сито с ячейками 3 мм) точно взвешивали и помещали в коническую колбу объемом 500 мл. Затем в колбу добавляли 250 мл кипящей воды и экстрагировали в течение 30 мин, используя обратный холодильник для предотвращения испарения. Во время экстракции смесь периодически перемешивали.

Тест-культуры	Размеры зоны задержки роста по диаметру, мм	
	Водное извлечение из травы	Водное извлечение из листьев
	кипрея узколистного	шалфея лекарственного
Candida albicans SG	15,2±0,98	8,2±0,01
Candida tropicalis	8,1±0,01	8,1±0,02
Escherichia coli 19	23,2±1,36	20,4±0,89
Enterococcus faecalis	21,6±1,57	8,4±0,02
Pseudomonas aeruginosa 22	15,6±0,89	14,8±0,47
Staphylococcus aureus 31	17,2±0,38	8,0±0,02

Изучение противобактериальной и противогрибковой активности водного извлечения травы кипрея узколистного

Источник: составлено авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

После охлаждения до комнатной температуры полученный экстракт фильтровали через вату, чтобы удалить твердые частицы, и собирали фильтрат в мерную колбу объемом 250 мл. Колбу доводили до метки дистиллированной водой, тщательно перемешивая для получения однородного раствора.

Для анализа 25 мл полученного водного экстракта переносили в коническую колбу объемом 1000 мл, добавляли 500 мл воды и 25 мл раствора индигосульфокислоты. Этот раствор титровали 0,02 М раствором перманганата калия до появления устойчивого золотисто-желтого оттенка, постоянно перемешивая.

Одновременно проводили контрольный опыт: в другую коническую колбу объемом 1000 мл помещали 525 мл воды и 25 мл раствора индигосульфокислоты и также титровали 0,02 М раствором перманганата калия до аналогичного золотисто-желтого цвета.

Один миллилитр 0,02 М раствора калия перманганата равен 0,004157 г дубильных веществ, пересчитанных на танин.

По результатам выполненных исследований в растительном сырье кипрея узколистного было установлено содержание дубильных веществ на уровне 14,32% и флавоноидов -0,89%.

Оценка результатов антибактериальной активности производилась путем измерения диаметра зон ингибирования роста микроорганизмов вокруг лунки, причем в измерение включался и диаметр самой лунки. Измерения зон проводили с использованием миллиметровой бумаги. В случаях, когда зоны угнетения роста имели эллиптическую форму, измеряли как максимальный, так и минимальный диаметры зоны, после чего вычисляли среднее арифметическое значение, которое и принималось в качестве итогового показателя.

Отсутствие зон задержки роста микроорганизмов вокруг лунки с исследуемым препаратом интерпретировалось как нечувствительность данной тест-культуры к препарату. Наличие зон ингибирования роста с диаметром более 10 мм указывало на чувствительность испытуемой культуры к данному препарату. При этом чем больше размер зоны задержки роста тесткультуры, тем выше ее чувствительность к исследуемому извлечению.

Результаты определения антимикробной активности представлены в таблице.

При оценке действия на исследуемые тест-культуры водное извлечение, полученное из травы кипрея узколистного, продемонстрировало значительный уровень антимикробной активности в отношении Escherichia coli 19, Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus 31, Candida albicans SG и Pseudomonas aeruginosa 22. Исключение составила культура Candida tropicalis, для которой активность была менее выражена. Препарат сравнения (водное извлечение из листьев шалфея лекарственного) проявил низкую активность по отношению к большинству исследуемых микроорганизмов. Антибактериальное действие для данного препарата сравнения было зафиксировано только в отношении Escherichia coli 19 и Pseudomonas aeruginosa 22, где зона задержки роста микроорганизмов соответственно была 20,4 мм и в отношении Pseudomonas aeruginosa 22–14,8 mm.

Заключение

В ходе выполненной работы были проведены качественные реакции, позволившие идентифицировать основные группы биологически активных соединений: флавоноиды и дубильные вещества. Полученные результаты могут быть использованы для целей диагностики (аутентифи-

кации) данного вида растительного сырья. Также было осуществлено количественное определение содержания указанных групп веществ. Для водного извлечения, приготовленного из травы кипрея узколистного, была установлена антимикробная активность. Эта активность была сопоставима с действием референтного водного извлечения из листьев шалфея лекарственного, а в отношении культур Escherichia coli 19 и Pseudomonas aeruginosa 22 даже превосходила его.

Список литературы

- 1. Бушуева Г.Р., Сыроешкин А.В., Максимова Т.В., Скальный А.В. Кипрей узколистный перспективный источник биологически активных соединений // Микроэлементы в медицине. 2016. № 17 (2). С. 15–23. URL: https://journal.microelements.ru/uploads/2016_2/15_17(2)_2016.pdf (дата обращения: 14.07.2025). DOI: 10.19112/2413-6174-2016-17-2-15-23.
- 2. Кукина Т.П., Фролова Т.С., Сальникова О.И. Липофильные кислоты иван-чая узколистного // Химия растительного сырья. 2014. № 1. С. 139–146. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/lipofilnye-kisloty-ivan-chaya-uzkolistnogo (дата обращения: 22.07.2025).
- 3. Государственная фармакопея РФ XIV издания. Минздрав РФ. М., 2018. [Электронный ресурс]. URL: http://femb.ru/femb/pharmacopea.php (дата обращения: 30.07.2025).
- 4. Bartfay W.J., Bartfay E., Johnson J.G. Gram-negative and grampositive antibacterial properties of the whole plant extract of willow herb (*Epilobium angustifolium*) // Biol. Res. Nurs. 2012. Jan. 14 (1). C. 85–89. URL: https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=2318724 (дата обращения: 28.07.2025). DOI: 10.1177/1099800410393947.
- 5. Савоськина О.А. Почвозащитные приемы обработки важнейший резерв снижения потерь биофильных элементов на эрозионноопасных землях // Агрохимический вестник. 2011. № 1. С. 19–23. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/pochvozaschitnye-priemy-obrabotki-vazhney-shiy-rezerv-snizheniya-poter-biofilnyh-elementov-na-erozionnoopasnyh-zemlyah (дата обращения: 22.07.2025). EDN: NDXUMN.
- 6. Набатников С.А., Мартиросян Л.Ю. Некоторые аспекты использования кипрея узколистного (*Chamaenérion angustifolium*) // Аграрная наука. 2022. № 12. С. 130–134. URL:https://cyberleninka.ru/article/n/nekotorye-aspekty-kultivirovaniya-kipreya-uzkolistnogo-chamerion-angustifolium-l-holub-onagraceae (дата обращения: 23.07.2025). DOI: 10.32634/0869-8155-2022-365-12-130-134.
- 7. Кароматов И.Д., Тураева Н.И. Кипрей узколистный (Иван-чай) // Биология и интегративная медицина. 2016. № 6. С. 160-169. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/kiprey-uzkolistyy-ivan-chay?ysclid=mdrv9xt8vs994489339 (дата обращения: 28.07.2025).

- 8. Горбунова Е.В., Горбунов Р.В. Перспективное направление переработки кипрея узколистного, как источника биологически активных веществ // Известия сельскохозяйственной науки Тавриды. 2016. № 5 (168). С. 85–90. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/perspektivnoe-napravlenie-pererabotki-kipreya-uzkolistnogo-kak-istochnika-biologicheski-aktivnyh-veschestv (дата обращения: 23.07.2025).
- 9. Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Ятманов А.Н., Шабанов П.Д. Фитопрепараты в регуляции дезадаптационных нарушений у практически здорового человека // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2017. Т. 15. № 4. С. 24–29. URL: https://cyberleninka.ru/aricle/n/fitopreparaty-v-regulyatsii-dezadaptatsionnyh-narusheniy-u-prakticheski-zdorovogo-cheloveka (дата обращения: 28.07.2025). DOI: 10.17816/RCF15424-29.
- 10. Попов И.В., Козлова В.В., Попова О.И., Коновалов Д.А. Исследования по формированию модели и методического обеспечения оценки качества фармацевтических услуг в фитогерапии на курортах Кавказских Минеральных Вод // Фармация и фармакология. 2015. № 2 (9). С. 67—71. URL: https://www.pharmpharm.ru/jour/article/view/115 (дата обращения: 25.07.2025). DOI: 10.19163/2307-9266-2015-3-2(9)-67-71.
- 11. Трухачев В.И. Об итогах международной научной конференции «Агробиотехнология-2021» // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2021. № 5. С. 5–18. URL: https://izvestiia.timacad.ru/jour/article/view/224 (дата обращения: 28.07.2025). DOI: 10.26897/0021-342X-2021-5-5-18.
- 12. Попова О.И., Никитина А.С., Азрякова Е.А. Количественное определение суммы флавоноидов в траве шалфея мучнистого (*Salvia Farinacea* Benth.) // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4. № 1 (14). С. 55–65. URL: https://www.pharmpharm.ru/jour/article/view/188/304 (дата обращения: 24.07.2025). DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-1(14)-55-65 (6).
- 13. Царев В.Н., Базарнова Н.Г., Дубенский М.М. Кипрей узколистный (*Chamaenérion angustifolium* L.): химический состав, биологическая активность (Обзор) // Химия растительного сырья. 2016. № 4. С. 15–26. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/kiprey-uzkolistnyy-chamerion-angustifolium-l-himicheskiy-sostav-biologicheskaya-aktivnost-obzor (дата обращения: 28.07.2025). DOI: 10.14258/jcprm.2016041549.
- 14. Суржик М.М., Зориков П.С. Кипрей узколистный (*Chamerion angustifolium* (L.) SCOP.) в Приморском крае // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018. № 11–1. С. 119–123. URL: https://applied-research.ru/ru/article/view?id=12461 (дата обращения: 05.07.2025). DOI: 10.17513/mjpfi.12461.
- 15. ОФС.1.5.3.0008. Общая фармакопейная статья. Определение содержания дубильных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения (утв. и введена в действие Приказом Минздрава России от 20.07.2023 № 377) (Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание) [Электронный ресурс] URL: https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/10/gosudarstvennaya-farmakopeya-rossiyskoy-federatsii-xv-izdaniya (дата обращения: 25.07.2025).