

СТАТЬЯ

УДК 54:579.64:579.66

**АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА
ПРОТИВ ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ
МИКРООРГАНИЗМОВ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА,
ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ**

¹Калмурзаева А.Ш., ¹Джуманазарова А.З., ²Сариева Ж.К.

¹*Институт химии и химической технологии НАН КР, Бишкек,
e-mail: dzhumanazarova@gmail.com, Anisa_93@bk.ru;*

²*Диагностическая микробиологическая лаборатория Ошского городского центра
профилактики заболеваний и Госсанэпиднадзора
с функциями координации деятельности службы по Ошской области, Ош*

Проведены микробиологические испытания экстрактов одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) и лопуха войлочного (*Arctium tomentosum* Mill.), содержащие наночастицы серебра, с целью установления антимикробных свойств. Рассмотрены смеси экстрактов вышеуказанных растений и раствора нитрата серебра, взятые в объемных соотношениях 4:4 и 2:6, в которых произошло образование наночастиц серебра. Об образовании наночастиц серебра в экстрактах указанных растений судили по изменению цвета реакционных смесей и возникновению полос поглощения в области 420 нм в УФ-спектрах. Для определения микробиологической активности испытуемых смесей рассмотрено их действие на следующие бактерии: сенная палочка (*Bacillus cereus*, *B. subtilis*), кишечная палочка (*Escherichia coli*), сальмонеллы (*Salmonella abony*), синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*), золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*), диплоидный грибок (*Candida albicans*). Результаты исследований показали, что наночастицы серебра (НЧС) в экстрактах растений показывают антимикробную активность по сравнению с чистыми экстрактами. Причем НЧС, полученные в тех же условиях, но в экстрактах разных растений, обладают разными активностями по отношению к изученным микроорганизмам. Также активности могут различаться для НЧС, полученных при разных соотношениях экстрактов растений и раствора нитрата серебра. Наибольшую антимикробную активность против *Candida albicans* проявили НЧС, полученные в экстракте одуванчика (*Taraxacum officinale* Wigg.) и нитрата серебра при их соотношении 4:4, что в перспективе заслуживает детального изучения для внедрения их в практику.

Ключевые слова: наночастицы серебра, экстракты растений, УФ-спектры, антимикробная активность, *Taraxacum officinale* Wigg., *Arctium tomentosum* Mill.

**ANTIMICROBIAL PROPERTIES AGAINST PATHOGENIC
AND CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROORGANISMS
OF SILVER NANOPARTICLES PRODUCED FROM PLANT EXTRACTS**

¹Kalmurzaeva A.Sh., ¹Dzhumanazarova A.Z., ²Sarieva Zh.K.

¹*Institute of Chemistry and Fitotechnology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republik,
Bishkek, e-mail: dzhumanazarova@gmail.com, Anisa_93@bk.ru;*

²*Diagnostic microbiological laboratory of the Osh City for Disease Prevention
and state Sanitary and Epidemiological Supervision with the functions
of coordinating the activation of the service in the Osh region, Osh*

Microbiological testing of extracts of dandelion (*Taraxacum officinale* Wigg.) and burdock (*Arctium tomentosum* Mill.) containing silver nanoparticles was carried out in order to develop promising biologically active substances and antimicrobial drugs for medicine. Mixtures of extracts of the above plants and a solution of silver nitrate, taken in a ratio of 4:4 and 2:6, were considered. The formation of silver nanoparticles in the extracts of these plants was judged by the change in the color of the reaction mixtures and the appearance of absorption bands in the microbiological activity of the tested mixtures, their effect on the following bacteria was considered: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella abony*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*. The research results showed that the presence of silver nanoparticles (SNPs) in plant extracts showed antimicrobial activity compared to pure extracts. Moreover, SNPs obtained under the same conditions, but in extracts of different activities in relation to the studied microorganisms. Also, activities may differ for SNPs obtained with different ratios of plant extracts and silver nitrate. The highest antimicrobial activity against *Candida albicans* was shown by SNPs obtained in the extract of dandelion (*Taraxacum officinale* Wigg.) and silver nitrate at a ratio of 4:4, which in the future deserves a detailed study for future deserves a detailed study for their implementation in practice.

Keywords: silver nanoparticles, plant extracts, UV spectra, antimicrobial activity, *Taraxacum officinale* Wigg., *Arctium tomentosum* Mill.

В последнее время одной из серьезных проблем современной медицины является множественная лекарственная устойчивость патогенов, в качестве эффективных

и безопасных антибактериальных, антимикробных средств рассматриваются наночастицы серебра (НЧС), которые могут проявлять также инсектицидные и фунги-

цидные свойства и которые можно получить с помощью экстрактов растений. Включение наночастиц Ag в состав материала придает ему выраженные антимикробные и фунгицидные свойства, а использование экстрактов растений предполагает биобезопасность и экологическую чистоту производства металлических НЧ: химические и физические методы, применяемые для получения НЧ, часто дороги и потенциально опасны для окружающей среды [1, 2].

Ряд полученных таким образом наночастиц (например, серебра, цинка и др.) проявляют антибактериальные и фунгицидные свойства, что делает их перспективными для использования в медицине [3, 4].

Так, описаны наночастицы серебра, полученные с использованием экстракта *Tridax procumbens* (тридакс), обладающие сильной антимикробной активностью в отношении *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* и *Vibrio cholera*. Наночастицы серебра, полученные с использованием экстрактов шишек *Pinus thunbergii* (сосна Тунберга), проявляли антибактериальное действие в отношении различных грамположительных и грамотрицательных сельскохозяйственных патогенов, таких как *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas soryzae*, *Burkholderia glumae* и *Bacillus thuringiensis*. Серебряные наночастицы, полученные с использованием экстрактов латекса *Euphorbia niviulia* (молочай), токсичны для линии клеток A549 рака легкого человека. Наночастицы серебра, синтезированные в *Nerium oleander* (олеандр обыкновенный), обладали сильным ларвицидным действием против личинок переносчика малярии *Anopheles stephensi* [5].

Цель исследования – разработка перспективных для медицины биологически активных веществ и антимикробных препаратов из экстрактов одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) и лопуха

войлочного (*Arctium tomentosum* Mill.), содержащих наночастицы серебра.

Материалы и методы исследования

Основным параметром, характеризующим взаимоотношения между микробом и антимикробным препаратом, является величина минимальной подавляющей концентрации (МПК) препарата. То есть МПК определяют как минимальную концентрацию, подавляющую видимый рост микроба. Антибактериальную активность данных образцов для определения МПК проводили по методике, описанной в приказе Минздрава Кыргызской Республики «Об утверждении методических рекомендаций по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» от 25.02.2016, № 139. Исследования проводили на базе диагностической микробиологической лаборатории Ошского городского центра Госсанэпиднадзора.

В данной работе исследованы образцы экстрактов двух растений, в которых были получены наночастицы серебра (НЧС): лопуха войлочного (*Arctium tomentosum* Mill.) и одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.), описанные нами ранее [6].

На рис. 1 представлены фото экстракта одуванчика (1) и образцы (2–5) при добавлении к экстракту растворов нитрата серебра (НС) (а), и соответствующие им полосы поглощения (ПП) в УФ-области (б). Из ПП можно сделать заключение, что наиболее интенсивные пики образуются при соотношениях (4:4) и (2:6).

На рис. 2 представлены фото экстракта лопуха (1) и образцы (2–5) при добавлении к экстракту растворов НС (а) и соответствующие им полосы поглощения (ПП) в УФ-области (б).

В экстрактах лопуха образование НЧС происходит при соотношениях ЭЛВ:НС 4:4 и 2:6 (рис. 2, б).

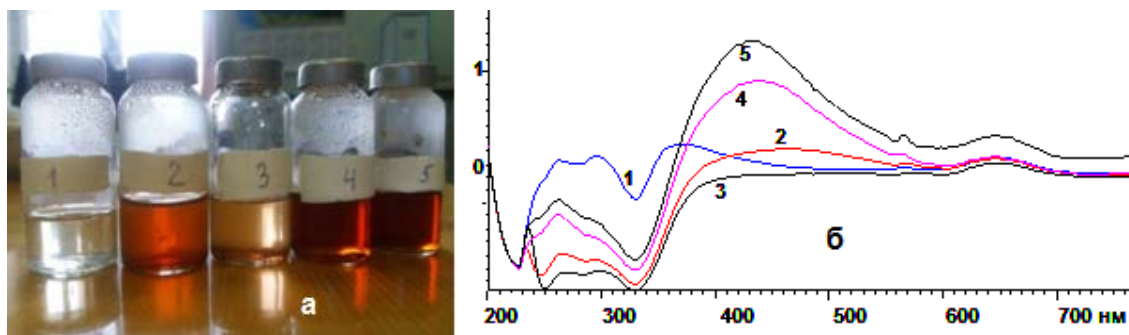


Рис. 1. а) 1 – экстракт одуванчика лекарственного (ЭОЛ) (*Taraxacum officinale* Wigg.); 2 – ЭОЛ: нитрат серебра (НС) 7:1; 3 – ЭОЛ:НС (6:2); 4 – ЭОЛ:НС (4:4); 5 – ЭОЛ:НС (2:6); б) UV-VIS-спектры: 1 – ЭОЛ; 2 – ЭОЛ:НС (7:1); 3 – ЭОЛ:НС (6:2); 4 – ЭОЛ:НС (4:4); 5 – ЭОЛ:НС (2:6)

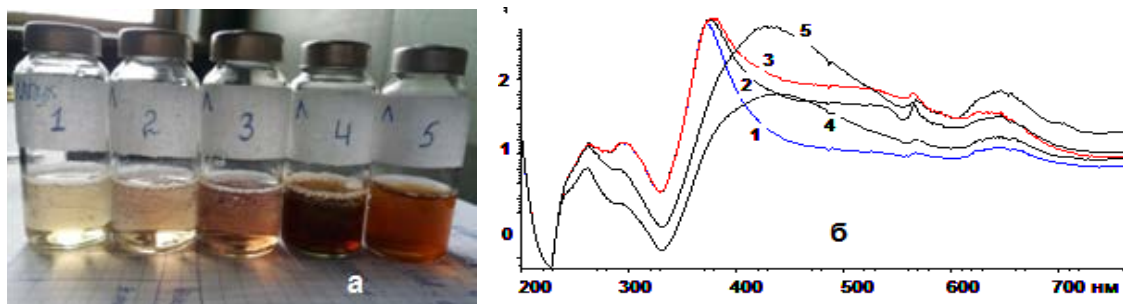
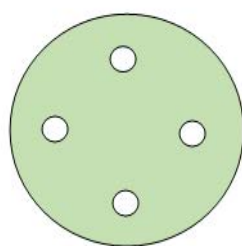


Рис. 2. а) 1 – экстракт лопуха войлочного (ЭЛВ) (*Arctium tomentosum* Mill.); 2 – ЭЛВ: нитрат серебра (НС) 7:1; 3 – ЭЛВ:НС (6:2); 4 – ЭЛВ:НС (4:4); 5 – ЭЛВ:НС (2:6); б) UV-VIS-спектры: 1 – ЭЛВ; 2 – ЭЛВ:НС (7:1); 3 – ЭЛВ:НС (6:2); 4 – ЭЛВ:НС (4:4); 5 – ЭЛВ:НС (2:6)



А



Б

Рис. 3. Приготовление образцов для инкубации (А) и измерение зон подавления роста на чашках с измерительной линейкой (Б)

Результаты тестов на микробиологическую активность водного экстракта лопуха и экстрактов лопуха, содержащих НЧС в соотношениях экстракт: НЧС (4:4), (2:6), и их разведенных образцов приведены в табл. 1–3, экстракта одуванчика и экстрактов одуванчика, содержащих НЧС в соотношениях экстракт: НЧС (4:4), (2:6) – в табл. 4–6.

Определение антибактериальной активности разбавленных образцов экстрактов, содержащих НЧС, проводилось методом дис-

ко-диффузии в агар на газоне тест-культур (рис. 3, А). Заранее готовили диски из фильтровальной бумаги с размером со стандартного диска и стерилизовали при 180 °С, затем пропитывали диски исследуемыми образцами, помещали на засеянную тестовой культурой микроорганизмов поверхность с оптимальной питательной средой и культивировали при 37 °С в течение суток. После инкубации оценивали наличие или отсутствие видимого роста в мм диаметра (рис. 3, Б).

Таблица 1

Микробиологическая активность водного экстракта лопуха (*Arctium tomentosum* Mill.) и разведенных образцов по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов

Тест-культуры	Экстр. лопуха, мм	Разведение экстр. лопуха и зоны подавления роста тест-культур в мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	–	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	–	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	–
<i>Salmonella abony</i>	–	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	–	–	–	–	–

Таблица 2

Микробиологическая активность водного экстракта лопуха (*Arctium tomentosum* Mill.) с наночастицами серебра (ЭЛ:НС4:4) и разведенных образцов по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов

Тест-культуры	ЭЛ:НС(4:4), мм	Разведения препарата и зоны подавления роста тест-культур, мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	5	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	5	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	5	–	–	–	–
<i>Salmonella abony</i>	5	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	10	–	–	–	–

Результаты исследования и их обсуждение

Из данных табл. 1 можно видеть, что экстракт лопуха и его разведенные образцы индифферентны ко всем протестированным микроорганизмам.

Экстракты лопуха (табл. 2) с содержанием НЧС при соотношении ЭЛВ:НС (4:4) индифферентны к *Pseudomonas aureginosa* и *Staphylococcus aeurus*, а к остальным проявляет активность до 5 мм, а к *Candida albicans* – 10 мм, однако при разведении эти экстракты к этим микроорганизмам индифферентны.

Экстракты лопуха (табл. 3) с содержанием НЧС при соотношении ЭЛВ:НС (2:6) проявляют активность ко всем испытанным микроорганизмам (табл. 6), однако при раз-

ведении экстракты к этим микроорганизмам также индифферентны.

Из анализа данных этой таблицы можно видеть, что чистый экстракт одуванчика проявляет активность только относительно *Candida albicans* (10 мм и 5 мм – при разведении 1:10), а к остальным микроорганизмам индифферентны (табл. 4).

Однако для экстракта одуванчика (*Taraxacum officinale* Wigg.) с наночастицами серебра при соотношении (ЭОЛ+НС, 4:4) и разведенных образцов картина меняется. Данная смесь индифферентна только по отношению к *Salmonella abony*; к остальным микроорганизмам активность ее значительна и наибольшего значения она достигает для *Candida albicans* от 30 мм без разведения и от 26 мм до 18 мм – при разведении (табл. 5).

Таблица 3

Микробиологическая активность водного экстракта лопуха (*Arctium tomentosum* Mill.) с наночастицами серебра (ЭЛВ+НС, 2:6) и разведенных образцов по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов

Тест-культуры	ЭЛВ:НС(2:6), мм	Разведения препарата и зоны подавления роста тест-культур, мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	8	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	8	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	10	–	–	–	–
<i>Salmonella abony</i>	10	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	–	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	10	–	–	–	–

Таблица 4

Микробиологическая активность водного экстракта одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) (ЭОЛ) и разведенных образцов по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов

Тест-культуры	Экстракт одуванчика, мм	Разведения экстракта одуванчика и зоны подавления роста тест-культур, мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	–	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	–	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	–
<i>Salmonella abony</i>	–	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	10	5	–	–	–

Таблица 5

Микробиологическая активность водного экстракта одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) с наночастицами серебра (ЭОЛ+НС, 4:4) и разведенных образцов по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов

Тест- культуры	ЭОЛ+НС(4:4), мм	Разведения препарата и зоны подавления роста тест-культур, мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	5	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	5	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	8	–	–	–	–
<i>Salmonella abony</i>	–	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	–	–	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	5	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	30	26	24	20	18

Таблица 6

Микробиологическая активность водного экстракта одуванчика (*Taraxacum officinale* Wigg.) с наночастицами серебра (ЭОЛ+НС, 2:6) и разведенных образцов по отношению к тест-культурам патогенных и условно-патогенных микроорганизмов

Тест-культуры	ЭО+НС (2:6), мм	Разведения препарата и зоны подавления роста тест-культур, мм			
		1:10	1:20	1:50	1:100
<i>Bacillus cereus</i>	8	–	–	–	–
<i>Bacillus subtilis</i>	8	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	10	–	–	–	–
<i>Salmonella abony</i>	–	–	–	–	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	10	5	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	8	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	24	20	18	10	8

Для экстракта одуванчика (*Taraxacum officinale* Wigg.) с наночастицами серебра при соотношении (ЭОЛ+НЧ, 2:6) и разведенных образцов активность падает, но остается достаточно высокой (от 24 мм до 8 мм) для *Candida albicans*. Данная смесь также индифферентна по отношению к *Salmonella abony*; к остальным микроорганизмам активность ее значительна: например, для *Pseudomonas aeruginosa* от 15 мм до 5 мм при разведении, для *Staphylococcus aureus* от 16 мм до 8 мм (табл. 6).

Заключение

Результаты исследований показывают, что, как и ожидалось, наличие НЧ в экстрактах растений показывают высокую активность по сравнению с чистыми экстрактами. Причем НЧ, полученные в тех же условиях, но в экстрактах разных растений обладают разными активностями по отношению к изученным микроорганизмам. Также активности могут различаться для НЧ, полученных при разных соотношениях экстракта и нитрата серебра.

Наибольшая антимикробная активность была получена для *Candida albicans* при тестировании НЧ, полученных в экстракте одуванчика (*Taraxacum officinale* Wigg.)

и нитрата серебра при их соотношении 4:4, что заслуживает внимания и требует дальнейшего детального изучения для внедрения в практику.

Список литературы

1. Макаров В.В., Лав А., Сеницына О.В., Макарова С.С., Яминский И.В., Тальянский М.Э., Калинина Н.О. «Зеленые» нанотехнологии: синтез металлических наночастиц с использованием растений // *Actanaturae*. 2014. Т. 6. № 1 (20). P. 37–47.
2. Сухина М.А., Шельгин Ю.А., Пяядина А.Ю., Фельдман Н.Б., Ананян М.А., Луценко С.В., Фролов С.А. Исследование ингибирующего и разрушающего действия препарата наночастиц серебра на биопленки, сформированные клинически значимыми микроорганизмами // *Колопроктология*. 2019. Т. 18. № 3 (69). С. 56–70.
3. Srikar S., Giri D., Pal D. et al. Green Synthesis of silver nanoparticles: A Review. *Green and Sustainable Chemistry*. 2016. No. 6. P. 34–56. DOI: 10.4236/gsc.2016.61004.
4. Singh P., Kim Y.J., Singh H., et al. Biosynthesis, characterization, and antimicrobial applications of silver nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine*. 2015. No. 10. P. 2567–2577. DOI: 10.2147/IJN.S72313.
5. Ravindra S., Murali Mohan Y., Narayana Reddy N., Mohana Raju K. Fabrication of antibacterial cotton fibres loaded with silver nanoparticles via «Green Approach». *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2010. V. 367. P. 31–40.
6. Джуманазарова А.З., Калмурзаева А.Ш., Матаипова А.К. Синтез наночастиц серебра с помощью экстрактов растений // *Вестник ОшГУ*. 2. Серия: Биология, химия, география и сельское хозяйство. 2020. С. 69–75.