

УДК 615.322:615.076.7:615.017



ФИТОХИМИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ТРАВЫ ЧЕРНУШКИ ПОСЕВНОЙ (*NIGELLA SATIVA* L.)

А.Р. Мубинов, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, С.Д. Колпакова, А.В. Жестков

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
443099, Россия, г. Самара, ул. Чапаевская, д. 89

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Получена 17.02.2022

После рецензирования 15.04.2022

Принята к печати 12.05.2022

Чернушка посевная – *Nigella sativa* L. является перспективным растительным объектом, лекарственное растительное сырье которой может быть комплексно использовано для разработки препаратов с антимикробной активностью.

Цель. Проведение фитохимического скрининга и сравнения антимикробной активности водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) с препаратом сравнения – настойкой эвкалипта.

Материалы и методы. Методом тонкослойной хроматографии в системе хлороформ – этанол – вода (26:16:3) были получены хроматограммы извлечений. Детектирование зон адсорбции проводилось при дневном свете, в УФ-свете при $\lambda=254$ нм и $\lambda=365$ нм, а также обработкой реактивами – спиртовым раствором алюминия (III) хлорида 3% и раствором диазобензосульфокислоты в 20% растворе натрия карбоната. Далее проводилось определение минимальной ингибирующей концентрации методом двойных серийных разведений в питательном бульоне Мюллера-Хинтона (Bio-Rad, США). В качестве тестовых культур были использованы штаммы микроорганизмов Американской коллекции типовых культур (ATCC): *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), а также *Candida albicans* (клинический штамм). Параллельно проводили опыт для постановки «отрицательного» контроля. Для сравнительной оценки активности изучаемых проб сопоставляли активность с препаратом сравнения – настойкой эвкалипта с доказанной антимикробной активностью.

Результаты. Для всех водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной выявлены характерные для флавоноидов зоны адсорбции с $Rf_1 = 0,28$, $Rf_2 = 0,15$, $Rf_3 = 0,11$, также под действием спиртового раствора алюминия (III) хлорида 3% происходит усиление флуоресценции зон адсорбции, что говорит о фенольной природе данных соединений. В ходе проведенного микробиологического исследования установлено, что все водно-спиртовые извлечения травы чернушки посевной оказывают наибольший антимикробный эффект в отношении штамма *Pseudomonas aeruginosa*. Отмечено, что препарат – настойка травы чернушки посевной на 70% спирте этиловом имеет преимущество по антимикробной активности к штамму *Pseudomonas aeruginosa* – действие при 16-кратном разведении против 4-кратного у настойки эвкалипта. Действие на штаммы *Escherichia coli* и *Candida albicans* сравнимо для обеих настоек.

Заключение. Полученные результаты фитохимического и микробиологического анализа будут использованы в качестве обоснования для внедрения антимикробных препаратов на основе травы чернушки посевной в медицинскую и фармацевтическую практику.

Ключевые слова: Чернушка посевная; *Nigella sativa* L.; трава; водно-спиртовые извлечения; настойка; минимальная ингибирующая концентрация; антимикробная активность

Список сокращений: ATCC – Американская коллекция типовых культур (American Type Culture Collection); CLSI – Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute); MRS-штаммы – метициллин-резистентные стафилококки (Methicillin-resistant *Staphylococcus*); MRSA – метициллинрезистентный золотистый стафилококк (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*); ГФ РФ XIV изд. – Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания; КОЕ/мл – колониеобразующие единицы; МИК – минимальная ингибирующая концентрация; МУК – методические указания; *N.* – *Nigella* L. (н-р, *N. sativa*).

Для цитирования: А.Р. Мубинов, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, С.Д. Колпакова, А.В. Жестков. Фитохимические и микробиологические аспекты изучения травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.). *Фармация и фармакология*. 2022;10(3):244-254. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-3-244-254

© А.Р. Мубинов, В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, С.Д. Колпакова, А.В. Жестков, 2022

For citation: A.R. Mubinov, V.A. Kurkin, E.V. Avdeeva, S.D. Kolpakova, A.V. Zhestkov. Phytochemical and microbiological aspects of the *Nigella sativa* L. herbs study. *Pharmacy & Pharmacology*. 2022;10(3):244-254. DOI: 10.19163/2307-9266-2022-10-3-244-254

PHYTOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF THE *NIGELLA SATIVA* L. HERBS STUDY

A.R. Mubinov, V.A. Kurkin, E.V. Avdeeva, S.D. Kolpakova, A.V. Zhestkov

Samara State Medical University
89, Chapaevskaya Str., Samara, Russia, 443099

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Received 17 Feb 2022

After peer review 15 April 2022

Accepted 12 May 2022

Nigella sativa L. is a promising plant object, herbal medicinal raw materials of which can be comprehensively used for the development of drugs with an antimicrobial activity.

The aim of the study was to screen and compare the antimicrobial activity of water-ethanolic extractions from the *Nigella sativa* L. herbs with a eucalyptus tincture of as a reference preparation.

Materials and methods. Chromatograms of the extracts were obtained by thin layer chromatography in the system of chloroform – ethanol – water (26:16:3). The detection of adsorption zones was carried out in daylight, in the UV light at $\lambda=254$ nm and $\lambda=365$ nm, as well as by treatment with reagents – a 3% alcohol solution of aluminum chloride and a solution of diazobenzosulfonic acid in a 20% sodium carbonate solution. The next step was to determine the minimum inhibitory concentration by the method of double serial dilutions in Mueller-Hinton nutrient broth (Bio-Rad, USA). As test cultures, the strains of the American Type Culture Collection (ATCC) microorganisms were used: *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), as well as *Candida albicans* (a clinical strain). Simultaneously, an experiment to establish a “negative” control was carried out. For the comparative evaluation of the studied samples activity, its activity was compared with the reference preparation with a proven antimicrobial activity – a eucalyptus tincture.

Results. For all water-ethanolic extractions and the *Nigella sativa* L. herb tincture, the adsorption zones characteristic of flavonoids with $Rf_1 = 0.28$, $Rf_2 = 0.15$, $Rf_3 = 0.11$ were revealed, and under the action of an alcoholic solution of aluminum chloride, the fluorescence of the adsorption zones was also enhanced, which indicates the phenolic nature of these compounds. In the course of the study, it was found out that all water-ethanolic extractions from the *Nigella sativa* L. herbs have the greatest antimicrobial effect against the *Pseudomonas aeruginosa* strain. When compared with the reference preparation – a eucalyptus tincture, it was notified that the specified tincture of the *Nigella sativa* L. herbs has an advantage in the antimicrobial activity over the strain of *Pseudomonas aeruginosa* – the action at the 16-fold dilution vs the 4-fold dilution. The action on the *Escherichia coli* and *Candida albicans* strains is comparable for the both tinctures.

Conclusion. The obtained results of phytochemical and microbiological analyses will be used as a rationale for the introduction of antimicrobial preparations based on the *Nigella sativa* herbs in medical and pharmaceutical practice.

Keywords: *Nigella sativa* L.; herbs; water-ethanolic extractions; tincture; minimum inhibitory concentration; antimicrobial activity

Abbreviations: ATCC – American Type Culture Collection; CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute; MRS-strains – methicillin-resistant *Staphylococcus*; MRSA – methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; SP RF XIV ed. – State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition; CFUs/ml – Colony forming units/ml; MIC – minimum inhibitory concentration; Gs – Guidelines; N. – *Nigella* L. (eg. *N. sativa*).

ВВЕДЕНИЕ

Создание новых антимикробных препаратов на основе растительного сырья всегда было и остается актуальной задачей современной фармации. Распространение различных новых вирусных и микробных инфекций не позволяет стабильно повышать качество жизни и здоровье людей и, во многом, усугубляет течение других сопутствующих заболеваний у пациентов. В настоящее время увеличение антимикробной резистентности представляет собой серьезную опасность, которая заключается в снижении эффективности мероприятий по профилактике и лечению инфекционных заболеваний человека [1–3].

В качестве перспективных лекарственных растений представляют интерес виды рода Чернушка (*Nigella* L.), известные ещё под названием «чёрный тмин», которые в народной медицине применяются

с глубокой древности как лекарственные и пищевые растения [4–6]. Род Чернушка (*Nigella* L.) состоит из 24-х видов, произрастающих в Средиземноморье, Южной и Юго-Восточной Европе, на Кавказе, в Малой и Средней Азии, Северной Африке; в СНГ распространено около 11 видов [7, 8].

В современной медицинской практике в основном применяются семена чернушки дамасской (*N. damascena* L.) и посевной (*N. sativa* L.). В мировом публикационном потоке достаточно много сведений о фармакологической активности различных групп биологически активных соединений, содержащихся в семенах, и, соответственно, в масле чернушки: большое содержание непредельных жирных кислот в жирном масле, высокое содержание тимохинона и наличие нигеллона как компонентов эфирного масла, углеводов, а также липолитических ферментов [6, 8–10].

Наиболее изучены семена чернушки, а также получаемое из них методом холодного прессования жирное масло. Сообщается, что эфирное масло чернушки обладает сильной антибактериальной активностью в отношении грамположительных (*Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*) бактерий [11, 12]. Также оказывает синергетический эффект со стрептомицином и гентамицином, в то время как аддитивный эффект проявляется со спектиномицином, эритромицином, тобрамицином, доксициклином, хлорамфениколом, налидиксовой кислотой, ампициллином, линкомицином и ко-тримоксазолом и аналогичен топическому мупироцину [11]. Описана также активность в отношении многих мультирезистентных устойчивых грамположительных и грамотрицательных бактерий [11–14]. Исследователи полагают, что данные противомикробные свойства обусловлены высоким содержанием тимохинона, в частности тимогидрохинона [12–15].

Экстракты из семян чернушки посевной могут быть использованы в качестве антималярийного и противовирусного средства [16]. Особый интерес вызывают последние исследования ряда ученых, показывающих перспективность чернушки посевной в профилактике и лечении COVID-19, что еще раз подтверждает уникальность этого растения [17, 18].

С учетом доказанного спектра антимикробной активности для семян и, соответственно, для масла чернушки посевной, представляется целесообразным с позиции комплексной переработки сырья изучение антимикробных свойств водно-спиртовых извлечений и препаратов на основе травы чернушки посевной. Данные исследования позволят расширить спектр представлений о фармакологической активности *N. sativa* и оценить возможности использования данного объекта при создании отечественных препаратов, применяемых в антибактериальной терапии.

Для объективной оценки антимикробной активности изучаемого сырья необходимо проведение скринингового анализа водно-спиртовых извлечений и определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) в отношении основных клинически значимых штаммов микроорганизмов, а также проведение сопоставления активности с препаратом сравнения – настойкой эвкалипта^{1,2}, для которой доказаны антимикробные свойства, в том числе против MRS-штаммов [19, 20].

ЦЕЛЬ. Проведение скрининга и сравнение антимикробной активности водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) с препаратом сравнения – настойкой эвкалипта.

¹ Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_5478.htm

² Государственная фармакопея Российской Федерации. Министерство здравоохранения РФ. XIV изд. Т. 1–4. М., 2018. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись экспериментальные водно-спиртовые извлечения травы чернушки посевной на различных концентрациях спирта этилового марки х.ч. (40%, 70%, 96%) (спирт этиловый 96%, серия: 360919 ООО «Гиппократ», г. Самара, Россия) в соотношении «сырье – экстрагент» (1:30) для выбора концентрации спирта этилового. Также была получена настойка травы чернушки посевной на спирте этиловом 70% в соотношении «сырье – экстрагент» (1:5) методом дробной мацерации с включением заключительной термической стадии – 30 минут при температуре 70°C.

Используемые концентрации спирта были получены путем разведения спирта этилового 96% по таблице №5 приложения к Государственной фармакопее Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV изд.)³. Следует отметить, что для большинства флавоноидсодержащих растений, оптимальным экстрагентом является спирт этиловый 70%, поскольку данная концентрация позволяет максимально экстрагировать флавоноиды и обладает лучшей проникающей способностью в глубокие слои эпидермиса в сравнении с более высокими концентрациями [21]. Кроме того, в жидкую фазу переходят и соединения терпеноидной природы как было установлено в ходе предварительных фитохимических исследований.

Анализируемые образцы сырья

Трава *Nigella sativa* L. была заготовлена в период с июля по август 2021 г. (Ульяновская обл., Чердаклинский р-н, рп. Чердаклы, Россия.). Для выращивания использовались коммерческие семена чернушки посевной («Нора здоровья», страна происхождения семян – Египет). Данное сырье, с позиции результатов проведенного нами фитохимического анализа различных образцов по происхождению и местам заготовки, было выбрано как наиболее ценное по содержанию фенольных и терпеноидных соединений, а также как перспективное для промышленного культивирования в европейской части и юга России. Видовая специфичность анализируемых объектов также была подтверждена при помощи определителей и атласа растений⁴.

Препарат сравнения

Препаратом сравнения с установленной антимикробной активностью являлась настойка эвкалипта на спирте этиловом 70% промышленного производства во флаконе на 25 мл (серия: 010620, ООО «Гиппократ», г. Самара, Россия). Срок годности – 5 лет.

Тестовые культуры

В качестве тестовых культур были использо-

³ Там же.

⁴ *Nigella sativa* L. // Плантариум. Растения и лишайники России и сопредельных стран: открытый онлайн атлас и определитель растений. – [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.plantarium.ru/page/view/item/25118.html>.

ваны штаммы Американской коллекции типовых культур (ATCC): *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), а также *Candida albicans* (клинический штамм), который был выделен из мокроты от пациента с бронхолегочной патологией в структурном подразделении ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России «Клиники СамГМУ», исследование проводилось в соответствии с одобрением Комитета по биоэтике при Самарском государственном медицинском университете (протокол №196 от 31 октября 2018 г.).

Методы исследования

Для первичного фитохимического анализа состава изучаемых извлечений использовался метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), который проводился в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0003.15 «Тонкослойная хроматография» ГФ РФ XIV изд.⁵ ТСХ осуществляли с использованием хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ», микропипеткой наносили 0,02 мл водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной. Рядом микропипеткой наносили раствор свидетеля – стандартный образец (СО) рутина, который соответствовал требованиям ГФ РФ XIV изд. и был предоставлен для исследования центром коллективного пользования Института фармации ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. Определение проводили в системе хлороформ – этанол – вода (26:16:3). Полученную хроматограмму просматривали в УФ-свете при $\lambda=254$ нм и $\lambda=365$ нм, а также обрабатывали 3% спиртовым раствором алюминия хлорида (III) ($AlCl_3$) и раствором диазобензосульфокислоты в 20% растворе натрия карбоната (ДСК).

Определение МИК проводили методом двойных серийных разведений в бульоне (пробирочный, макрометод) в соответствии с методиками, описанными в методических указаниях (МУК) 4.2.1890-04⁶. Метод двойных серийных разведений, по сравнению с диффузионными методами, позволяет качественно оценить наличие антимикробного эффекта путем визуальной оценки в сравнении со стандартом и определения минимальной ингибирующей концентрации изучаемого образца, которая обеспечивает замедление роста исследуемых штаммов микроорганизмов. В качестве питательной среды использовался питательный бульон Мюллера-Хинтона (Bio-Rad, США) [22].

⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации. Министерство здравоохранения РФ. XIV изд. Том 1–4, 2018.

⁶ Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические рекомендации. МУК 4.2.1890-04. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6, №4. – С. 306–359. (Методические указания утверждены и введены в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации – Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации Г.Г. Онищенко, 4 марта 2004 г.).

Методика

Тестирование исследуемых образцов проводилось в объеме 1 мл каждого разведения образца водно-спиртового извлечения и препарата сравнения.

Приготовление рабочего раствора

Для определения чувствительности питательный бульон разливался по 0,5 мл в каждую пробирку. Помимо количества пробирок, необходимых для разведения образца, одна пробирка использовалась для постановки «отрицательного» контроля. Рабочий раствор тестируемого образца готовили из основного раствора с использованием жидкой питательной среды (питательный бульон Мюллера-Хинтона). Концентрация рабочего раствора рассчитывали исходя из необходимой максимальной концентрации в ряду серийных разведений, с учетом фактора разбавления препарата при последующей инокуляции.

Рабочий раствор в количестве 0,5 мл при помощи микропипетки со стерильным наконечником вносили в первую пробирку, содержащую 0,5 мл бульона. Затем тщательно перемешивали и новым стерильным наконечником переносили 0,5 мл раствора тестируемого образца в бульоне во вторую пробирку, содержащую первоначально 0,5 мл бульона. Процедуру повторяли до тех пор, пока не был приготовлен весь необходимый ряд разведений. Из последней пробирки 0,5 мл бульона удаляли. Таким образом, получали ряд пробирок с растворами тестируемых образцов водно-спиртовых извлечений, концентрации которых отличаются в соседних пробирках в 2 раза. Одновременно готовили дополнительные ряды серийных разведений образцов для тестирования контрольных штаммов.

Приготовление инокулюма

Для инокуляции использовали стандартную микробную взвесь, эквивалентную 0,5 ЕД по стандарту МакФарланда, разведенную в 100 раз на питательном бульоне, после чего концентрация микроорганизма в ней составила примерно 10^6 КОЕ/мл. По 0,5 мл инокулюма вносили в каждую пробирку, содержащую по 0,5 мл соответствующего разведения тестируемого образца и в одну пробирку с 0,5 мл питательного бульона без образца («отрицательный» контроль). Конечная концентрация микроорганизмов в каждой пробирке достигала необходимой концентрации около 5×10^5 КОЕ/мл. Инокулюм вносился в пробирки с разведениями образца не позднее 15–30 мин с момента его приготовления.

Пробирки закрывали стерильными ватно-марлевыми пробками и все пробирки с тестируемыми штаммами, кроме пробирки с «отрицательным» контролем, инкубировали при температуре 35°C в течение 20–24 ч. Пробирка с «отрицательным» контролем помещалась в холодильник при 4°C, где хранилась до учета результатов.

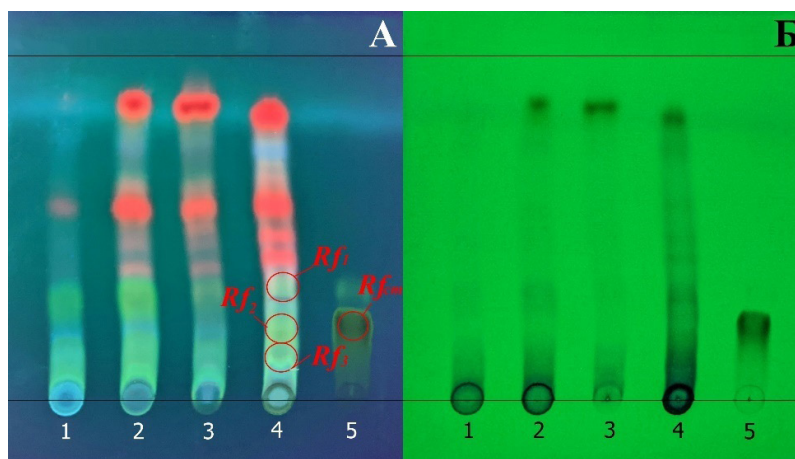


Рисунок 1 – Хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной
 Примечание: А – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; Б – детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм. 1 – 40% водно-спиртовое извлечение; 2 – 70% водно-спиртовое извлечение; 3 – 96% водно-спиртовое извлечение; 4 – настойка травы чернушки; 5 – СО рутина.

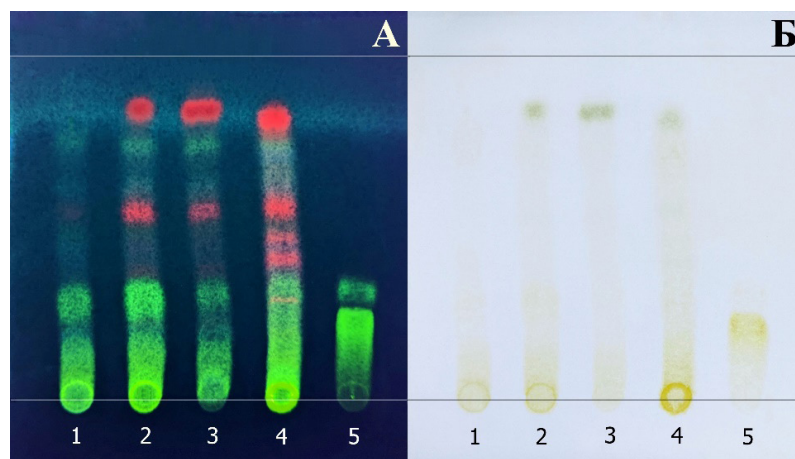


Рисунок 2 – Хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной
 Примечание: А – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки $AlCl_3$; Б – детекция после обработки ДСК. 1 – 40% водно-спиртовое извлечение; 2 – 70% водно-спиртовое извлечение; 3 – 96% водно-спиртовое извлечение; 4 – настойка травы чернушки; 5 – СО рутина.

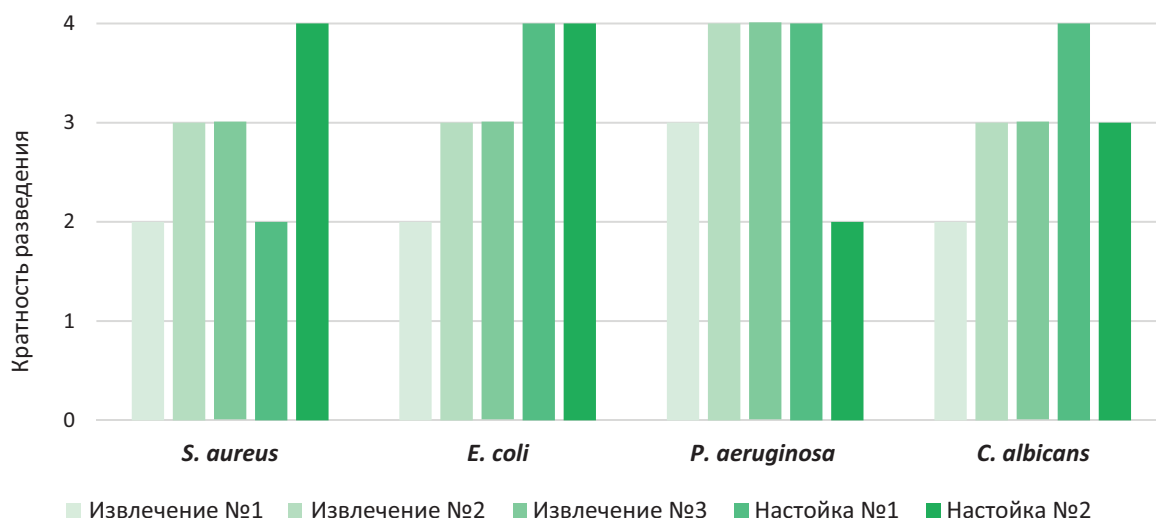


Рисунок 3 – Сравнительная диаграмма антибактериальной активности водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной и препарата сравнения

Примечание: извлечение №1 – 40% водно-спиртовое извлечение; извлечение №2 – 70% водно-спиртовое извлечение; извлечение №3 – 96% водно-спиртовое извлечение; настойка №1 – настойка травы чернушки; настойка №2 – настойка эвкалипта.

Таблица 1 – Результаты тестирования извлечений травы чернушки посевной (*N. sativa* L.) и препарата сравнения

Объект	Кратность разведения						
	1 1:2	2 1:4	3 1:8	4 1:16	5 1:32	6 1:64	7 1:128
<i>Staphylococcus aureus</i>							
Трава чернушки 40%	–	–	+	+	+	+	+
Трава чернушки 70%	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки 96%	–	–	–	+	+	+	+
Настойка травы чернушки 70%	–	–	+	+	+	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	–	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>							
Трава чернушки 40%	–	–	+	+	+	+	+
Трава чернушки 70%	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки 96%	–	–	–	+	+	+	+
Настойка травы чернушки 70%	–	–	–	–	+	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	–	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							
Трава чернушки 40%	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки 70%	–	–	–	–	+	+	+
Трава чернушки 96%	–	–	–	–	+	+	+
Настойка травы чернушки 70%	–	–	–	–	+	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>							
Трава чернушки 40%	–	–	+	+	+	+	+
Трава чернушки 70%	–	–	–	+	+	+	+
Трава чернушки 96%	–	–	–	+	+	+	+
Настойка травы чернушки 70%	–	–	–	–	+	+	+
Настойка эвкалипта 70%	–	–	–	+	+	+	+

Примечание: «+» наличие роста микроорганизма; «–» – отсутствие роста микроорганизма.

Таблица 2 – Минимальные подавляющие концентрации спирта этилового («отрицательный» контроль)

Объект	Кратность разведения						
	1 1:2	2 1:4	3 1:8	4 1:16	5 1:32	6 1:64	7 1:128
<i>Staphylococcus aureus</i>							
Этиловый спирт 40%	–	–	+	+	+	+	+
Этиловый спирт 70%	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>							
Этиловый спирт 40%	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 70%	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>							
Этиловый спирт 40%	–	–	+	+	+	+	+
Этиловый спирт 70%	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>							
Этиловый спирт 40%	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 70%	–	–	–	+	+	+	+
Этиловый спирт 96%	–	–	–	+	+	+	+

Примечание: «+» наличие роста микроорганизма; «–» – отсутствие роста микроорганизма.

Оценка роста микроорганизмов

Для определения наличия роста микроорганизмов пробирки с посевами просматривали в проходящем свете. Рост культуры в присутствии тестируемого образца проводили при сравнении с пробиркой «отрицательного» контроля, содержащей исходный инокулюм и хранившейся в холодильнике. МИК определяли по наименьшей концентрации тестируемого образца, которая подавляет видимый рост микроорганизма.

Оценка результатов эксперимента

Оценка результатов проводили визуально по наличию/отсутствию роста микроорганизмов в пробирках с соответствующими разведениями исследуемых образцов. Минимальной ингибирующей концентрацией являлась самая низкая концентрация изучаемого образца, которая полностью подавляла рост штамма микроорганизмов. При этом, согласно требованиям Методических указаний (МУК 4.2.1890-04)⁷ по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, а также рекомендациям Стандарта производительности для тестов на чувствительность к антимикробным препаратам (CLSI)⁸, наличие мутности и обнаружение незначительного количества микроорганизмов (одна колония) не учитывали при регистрации результата эксперимента. Количество повторений каждого эксперимента было равно 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам проведённого нами качественного хроматографического исследования выявлен ряд особенностей хроматографических профилей изучаемых объектов. Для всех водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки посевной выявлены характерные для флавоноидов зоны адсорбции тёмно-жёлтого и зелёного цвета с $Rf_1 = 0,28$; $Rf_2 = 0,15$; $Rf_3 = 0,11$ (рис. 1). Отмечается, что наиболее информативными являются хроматограммы, просматриваемые при длине волны 365 нм до и после обработки спиртовым раствором $AlCl_3$ и ДСК (рис. 2). Под действием спиртового раствора $AlCl_3$ происходит усиление флуоресценции зон адсорбции, что говорит о фенольной природе данных соединений. Раствор ДСК окисляет органические соединения от желто-оранжевого до кирпично-красного цвета при видимом свете (рис. 2).

Зона адсорбции СО рутин имела $Rf = 0,20$, что близко к соответствующим значениям Rf в изучаемых объектах, особенно в настойке травы чернушки посевной. При этом отмечается, что больше зон адсорбции различной природы наблюдается в на-

⁷ Там же.

⁸ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 13th ed. // CLSI standard M02. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA. – 2018.

стойке травы чернушки посевной, а интенсивность свечения данных зон выше у 70% водно-спиртового извлечения и настойки травы чернушки посевной, соответственно.

Проведение скрининга антимикробной активности водно-спиртовых извлечений из травы чернушки посевной, а также их сравнение с настойкой эвкалипта (препарат сравнения) позволило получить следующие данные.

При тестировании 40% водно-спиртового извлечения (1:30) травы чернушки посевной наблюдалась антимикробная активность в отношении штаммов *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* при четырехкратном разведении, а также в отношении микроорганизмов *P. aeruginosa* при восьмикратном разведении (табл. 1). При сравнении 40% водно-спиртового извлечения с «отрицательным» стандартом (МИК для спирта этилового 40%) наблюдалось небольшое различие антимикробной активности между исследуемым образцом и «отрицательным» стандартом, который проявил чуть большую активность в отношении *E. coli* и *C. albicans* (табл. 2). Данный факт позволяет утверждать об отсутствии существенного вклада комплекса биологически активных соединений экстракта в фармакологический эффект при данной концентрации извлечения.

Для 70% водно-спиртового извлечения (1:30) травы чернушки антимикробная активность была выраженной в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* в восьмикратном разведении; в отношении *P. aeruginosa* – при разведении в 16 раз (табл. 1). При сравнении с «отрицательным» стандартом спирта этилового в концентрации 70% отмечается усиление антимикробных свойств и подавление роста микроорганизмов *P. aeruginosa*.

Водно-спиртовое извлечение на спирте этиловом 96% (1:30) травы чернушки показало аналогичную антимикробную активность с 70% водно-спиртового извлечением: в отношении *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans* – при разведении в 8 раз, в отношении к *P. aeruginosa* – при разведении в 16 раз. При сравнении с «отрицательным» стандартом спирта этилового в концентрации 96% отмечается усиление антимикробных свойств и подавление роста микроорганизмов *P. aeruginosa*. Соответственно, для концентраций 70% и 96% водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной отмечается значительное подавление роста микроорганизмов *P. aeruginosa*.

Антимикробная активность препарата сравнения – 70% водно-спиртовой настойки эвкалипта, показывает её высокую активность в отношении *S. aureus* и *E. coli* – замедление роста микроорганизмов при разведении в 16 раз. Схожую активность с 70% и 96% извлечениями травы чернушки в отношении *C. albicans* при восьмикратном разведении и слабую активность в отношении *P. aeruginosa* – подавление роста микроорганизмов только при четырёх-

кратном разведении (табл. 1). Данный факт выгодно выделяет направленность действия биологически активных веществ травы чернушки посевной.

Тестируемый препарат – настойка травы чернушки посевной на спирте этиловом 70% (1:5), показал следующие результаты. Схожий с извлечениями на 70% и 96% спирте этиловом антимикробный эффект наблюдался в отношении *P. aeruginosa* при разведении пробы в 16 раз, однако, кроме данного преобладающего действия, усилился антимикробный эффект в отношении *E. coli* и *C. albicans* – остановка роста до 16-кратного разведения. Действие против штамма *S. aureus*, наоборот, немного снизилась – до четырёхкратного разведения (рис. 3).

В ходе сравнительного анализа препарата настойки травы чернушки посевной и препарата сравнения – настойки эвкалипта на спирте этиловом 70%, было установлено: значительный антимикробный эффект наблюдался против штаммов *P. aeruginosa* и *C. albicans* при разведении в 16 раз у настойки травы чернушки посевной; схожий антимикробный эффект у изучаемых настоек наблюдался против штамма *E. coli*; настойка эвкалипта проявила более высокую противомикробную активность в отношении штамма *S. aureus* (табл. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время одним из серьезных факторов, влияющих на успешность медикаментозной терапии инфекционных заболеваний, является повышение устойчивости патогенных микроорганизмов к антимикробным препаратам⁹. Особого внимания заслуживают стафилококки или метициллин-резистентные (MRS-штаммы), которые являются причиной внутрибольничных и внебольничных инфекций. Среди MRS-штаммов особенно часто встречается золотистый стафилококк (MRSA), штаммы которого устойчивы ко многим представителям группы β -лактамовых антибиотиков, включая пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы др. [21, 23, 24]. Не менее опасным штаммом является грамотрицательная бактерия *E. coli*, которая присутствует в кишечнике человека и может быть причиной различных инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы [25].

Потенциал вегетативных частей растения (листья, ветвей и стебля) *N. sativa* для снижения нагрузки на репродуктивную часть (семена) ранее изучался исследователями из Пакистана, которые провели помимо фитохимического скрининга, антибактериальный и антиоксидантный анализы, а также ГХ-МС анализ сильнодействующих экстрактов [26]. Высушенное растение экстрагировали методом разделения в серии концентраций от 1,562 до 200

мг/мл в различных растворителях. Антибактериальный анализ проводился по патогенным штаммам – *Clostridium difficile*, *Pasteurella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Xanthomonas sp.* Изоляты были субкультивированы на пластинах с питательным агаром и инкубированы при 37°C в течение 24 часов. Анализ проводился методом диффузии в агаровый диск [23, 26]. Зоны ингибирования измерялись на агаровых лунках, содержащих растительный экстракт. Анализ проводился для метанола, хлороформа, н-гексана, н-бутанола, водного и этилацетатного экстрактов в концентрациях 1,56–200 мг/мл. Зоны ингибирования измерялись через 24–48 ч. Результаты показали, что максимальная зона ингибирования (40±1,73 мм) наблюдалась в отношении *Xanthomonas stutzeri* среди всех экстрактов и 100 мг/мл хлороформного экстракта вызвали максимальную зону ингибирования для роста бактерий *Xanthomonas stutzeri* (36±1,26 мм) среди всех штаммов. Хлороформный экстракт с концентрацией 50 мг/мл также демонстрировал максимальное ингибирование роста бактерий, и точно такая же картина была отмечена для всех концентраций, экстрактов и бактериальных штаммов [26]. Помимо приведенного спектра фармакологической активности другими авторами часто упоминается антидиабетическая и антиоксидантная активность травы чернушки посевной [27, 28].

Учитывая факт ранее описанных исследований об антимикробной активности экстрактов из травы чернушки посевной, следует также уточнить компонентный состав и обсудить доминирующую группу биологически активных соединений (БАС) травы чернушки посевной. Так многие исследователи ссылаются на работу ученых из биотехнологического центра Туниса, где описывается изучение травы чернушки посевной методом ВЭЖХ из абсолютных метанольных экстрактов, в которых определены 14 фенольных соединений с общим содержанием 215 мг/100 г (в побегах), среди которых доминирующей группой являются фенолкарбоновые кислоты, представленные в основном галловой и винилиновой кислотами [29]. Кроме того, авторами была установлена антимутагенная активность исследуемых экстрактов побегов чернушки посевной с помощью теста Эймса [8, 29].

Фенольные соединения в траве чернушки посевной, представленные преимущественно фенолкарбоновыми кислотами и суммой флавоноидов, как описано выше, имеют потенциал к антимикробной активности, возможно, благодаря свободным фенольным гидроксигруппам, как в молекуле галловой кислоты [30]. Антимикробную активность данных соединений обсуждали также исследователи в работе по изучению химического состава и антимикробной активности сухого экстракта из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.), в которой они объясняют бактерицидное действие изучаемого экстракта на кокковую и спорообразующую флору, *Salmonella*

⁹ Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические рекомендации. МУК 4.2.1890-04.

gallinarum и *Pseudomonas aeruginosa*, а также бактериостатическое действие в отношении *Escherichia coli* с высоким содержанием галловой кислоты [31]. Проведённое нами ранее фитохимическое исследование состава травы чернушки посевной методом дифференциальной и прямой спектрофотометрии при длине волны 254 и 365 нм подтверждает доминирование веществ фенольной природы [32]. Кроме того, проведённый ТСХ-анализ водно-спиртовых извлечений и настойки травы чернушки после обработки специфичным реактивом на флавоноиды – спиртовым раствором $AlCl_3$, наглядно демонстрирует качественный состав изучаемых образцов (рис. 1, рис. 2). Механизм специфичности взаимодействия реактива обусловлен образованием батохромных комплексов со свободными 3- и 5-гидроксигруппами флавоноидов, что усиливает флуоресценцию соответствующих зон адсорбции при длине волны 365 нм [33].

В процессе проведенного скринингового анализа антимикробной активности водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной были определены условия получения лекарственной формы – настойки. В качестве экстрагента для изготовления настойки травы чернушки посевной был выбран спирт этиловый с 70% концентрацией, поскольку данная концентрация является оптимальным экстрагентом для данного сырья, содержащего комплекс биологически активных веществ группы флавоноидов, а также извлечения ценной терпеноидной фракции – вместо обеспечивающих наблюдаемый антимикробный эффект [23, 26].

Выбор в пользу 70% концентрации спирта как экстрагента для получения настойки травы чернушки посевной был сделан исходя из того, что для лекарственных форм при данных параметрах экстракции отмечается наибольший антимикробный эффект в отношении изучаемых штаммов микроорганизмов, в особенности штамма *P. aeruginosa*. Помимо основного направленного действия против штамма *P. aeruginosa*, усиливается действие на другие штаммы

– *E. coli* и *C. albicans*. Кроме того, данная концентрация спирта этилового обладает лучшей проникающей способностью в глубокие слои эпидермиса по сравнению с более высокими и с более низкими концентрациями спирта [21, 32].

Учитывая, что трава чернушки посевной имеет большую фитомассу по сравнению с семенами и подвергается утилизации при сборе семян, её сбор поможет осуществлять комплексное и многоплановое использование всего сырья и будет способствовать появлению новых лекарственных растительных препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведены фитохимический скрининг и сравнительное исследование по изучению антимикробной активности *in vitro* экспериментальных водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной, в результате которого обнаружены основная группа БАС – флавоноиды, а также установлено антимикробное действие на ряд патогенных штаммов микроорганизмов – *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*, *S. aureus*. Установлено, что все изучаемые образцы водно-спиртовых извлечений травы чернушки посевной дают стабильный превалирующий антимикробный эффект в отношении штамма *P. aeruginosa*.

Настойка чернушки посевной на спирте этиловом 70% (1:5) имеет специфическую направленность против штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, также в предложенной лекарственной форме возрастает активность в отношении штаммов *Escherichia coli* и *Candida albicans*, которая сравнима с настойкой эвкалипта, используемой в медицинской и фармацевтической практике. Полученные в ходе исследования результаты могут служить основанием для создания новых антибактериальных препаратов на основе травы чернушки посевной, а также для дальнейшего внедрения препаратов настойки травы чернушки посевной на спирте этиловом 70% в медицинскую и фармацевтическую практику.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.Р. Мубинов – сбор растительного материала для анализа, проведение эксперимента, анализ и интерпретация полученных данных, анализ литературы, написание и подготовка рукописи для публикации; В.А. Куркин – окончательное утверждение для публикации рукописи, обработка полученных результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания; Е.В. Авдеева – участие в разработке концепции и дизайна исследования, критический анализ результатов исследования; С.Д. Колпакова – планирование исследования, участие в проведении исследования; А.В. Жестков – участие в описании и анализе полученных результатов, написание рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Dasgupta A., Krasowski M.D. Chapter 10 – Therapeutic drug monitoring of antimicrobial, antifungal and antiviral agents, Therapeutic Drug Monitoring Data (Fourth Edition). – Academic Press, 2019. – P. 159–197. DOI: 10.1016/B978-0-12-815849-4.00010-4.
- Larsson D.G.J., Flach C.F. Antibiotic resistance in the environment // Nat. Rev. Microbiol. – 2022. – No.20. – P. 257–269. DOI: 10.1038/s41579-021-00649-x.
- Walusansa A., Asiimwe S., Nakavuma J.L., Ssenku J.E., Katuura E., Kafeero H.M., Aruhomukama D., Nabatanzi A., Anywar G., Tugume A.K., Kakudidi E.K. Antibiotic-resistance in medically important bacteria isolated from commercial herbal medicines in Africa from 2000 to 2021: a systematic review and meta-analysis. // Antimicrob. Resist. Infect. Control. – 2022. – Vol. 11, No.1. – Art. No.11. DOI: 10.1186/s13756-022-01054-6.
- Прохоров В.Н. Нигелла – ценная хозяйственно-полезная культура (обзор литературы) // Овощи России. – 2021. – №4. – С. 111–123. DOI: 10.18619/2072-9146-2021-4-111-123.
- Aftab A., Zubaida Y., Arshad J., Ashiq R., Shakeel A., Farah K. Nigella sativa L. from traditional to contemporary medicine: a review // IJBB. – 2018. – Vol. 15, No. 2. – P. 237–254.
- Ijaz H., Tulain U.R., Qureshi J., Danish Z., Musayab S., Akhtar M.F., Saleem A., Khan K.K., Zaman M., Waheed I., Khan I., Abdel-Daim M. Review: Nigella sativa (Prophetic Medicine): A Review // Pak. J. Pharm. Sci. – 2017. – Vol. 30, No. 1. – P. 229–234.
- Datta A.K., Saha A., Bhattacharya A., Mandal A., Paul R., Sengupta S. Black cummin (Nigella sativa L.) – a review // J Plant Dev Sci. – 2012. – Vol. 4. – P. 1–43.
- Рудь Н.К., Сампиев А.М., Давитавян Н.А. Основные результаты фитохимического и фармакологического исследования чернушки посевной // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2013. – № 25(168). – С. 207–212.
- Salehi B., Quispe C., Imran M., Ul-Haq I., Živković J., Abu-Reidah I.M., Sen S., Taheri Y., Acharya K., Azadi H., Del Mar Contreras M., Segura-Carretero A., Mnayer D., Sethi G., Martorell M., Abdull Razis A.F., Sunusi U., Kamal R.M., Rasul Suleria H.A., Sharifi-Rad J. Nigella Plants – Traditional Uses, Bioactive Phytoconstituents, Preclinical and Clinical Studies // Frontiers in Pharmacology. – 2021. – Vol. 12. – Art. ID: 625386. DOI: 10.3389/fphar.2021.625386.
- Pop R.M. Future Perspectives on Nigella Sativa: Characterization and Pharmacological Properties // Series: Herbs and Herbalism. – New York: Nova Biomedical, 2018. – 280 p.
- Hanafy M.S., Hatem M.E. Studies on the antimicrobial activity of Nigella sativa seed (black cummin) // J. Ethnopharmacol. – 1991. – Vol. 34, No.2–3. – P. 275–278. DOI: 10.1016/0378-8741(91)90047-h.
- Hariharan P., Paul-Satyaseela M., Gnanamani A. In vitro profiling of antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activity of thymoquinone against selected type and clinical strains // Lett. Appl. Microbiol. – 2016. – Vol.62, No.3. – P. 283–289. DOI: 10.1111/lam.12544.
- Arici M., Sagdic O., Gecgel U. Antibacterial effect of Turkish black cummin (*Nigella sativa* L.) oils // Grasas y Aceites. – 2005. – Vol. 56, No. 4. – P. 259–262. DOI: 10.3989/gya.2005.v56.i4.90.
- Amin B., Hosseinzadeh H. Black Cummin (*Nigella sativa*) and Its Active Constituent, Thymoquinone: An Overview on the Analgesic and Anti-inflammatory Effects // Planta Med. – 2016. – Vol. 82, No.1–2. – P. 8–16. DOI: 10.1055/s-0035-1557838.
- Chaieb K., Kouidhi B., Jrah H., Mahdouani K., Bakhrouf A. Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation // BMC Complement. Altern. Med. – 2011. – No.11. – Art. No.29. DOI: 10.1186/1472-6882-11-29.
- Udu R., Oyweri J., Gathirwa J. Antimalarial Activity of *Nigella sativa* L. Seed Extracts and Selection of Resistance in *Plasmodium berghei* ANKA in a Mouse Model // J. Pathog. – 2021. – Vol. 2021. – Art. ID: 6165950. DOI: 10.1155/2021/6165950.
- Khazdair M.R., Ghafari S., Sadeghi M. Possible therapeutic effects of *Nigella sativa* and its thymoquinone on COVID-19 // Pharm. Biol. – 2021. – Vol. 59, No.1. – P. 696–703. DOI: 10.1080/13880209.2021.1931353.
- Xu H., Liu B., Xiao Z., Zhou M., Ge L., Jia F., Liu Y., Jin H., Zhu X., Gao J., Akhtar J., Xiang B., Tan K., Wang G. Computational and Experimental Studies Reveal That Thymoquinone Blocks the Entry of Coronaviruses Into In Vitro Cells // Infect. Dis. Ther. – 2021. – Vol. 10, No.1. – P. 483–494. DOI: 10.1007/s40121-021-00400-2.
- Tohidpour A., Sattari M., Omidbaigi R., Yadegar A., Nazemi J. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) // Phytomedicine. – 2010. – Vol. 17, No.2. – P. 142–145. DOI: 10.1016/j.phymed.2009.05.007.
- Mulyaningsih S., Sporer F., Reichling J., Wink M. Antibacterial activity of essential oils from Eucalyptus and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens // Pharm. Biol. – 2011. – Vol. 49, No.9. – P. 893–899. DOI: 10.3109/13880209.2011.553625.
- Рябов Н.А., Рыжов В.М., Куркин В.А. Методика количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого *Quercus robur* L. // Фармация и фармакология. – 2021. – Т. 9, №5. – С. 356–366. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-5-356-366.
- Golus J., Sawicki R., Widelski J., Ginalska G. The agar microdilution method – a new method for antimicrobial susceptibility testing for essential oils and plant extracts // J. Appl. Microbiol. – 2016. – Vol. 121, No.5. – P. 1291–1299. DOI: 10.1111/jam.13253.
- Atef N.M., Shanab S.M., Negm S.I., Abbas Y.A. Evaluation of antimicrobial activity of some plant extracts against antibiotic susceptible and resistant bacterial strains causing wound infection // Bull. Natl. Res. Cent. – 2019. – Vol. 43. – Art. No. 144. DOI: 10.1186/s42269-019-0184-9.
- Pailhoriès H., Munir M.T., Aviat F., Federighi M., Belloncle C., Eveillard M. Oak in Hospitals, the Worst Enemy of *Staphylococcus aureus*? // Infect. Control. Hosp. Epidemiol. – 2017. – Vol. 38, No.3. – P. 382–384. DOI: 10.1017/ice.2016.304.
- Козлова И.В., Лекарева Л.И., Быкова А.П., Мясина Ю.Н., Островская Л.Ю. Кандидоз желудочно-кишечного тракта // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2016. – № 3(127). – С. 40–46.
- Aftab A., Yousaf Z., Aftab Z.E., Younas A., Riaz N., Rashid M., Shamsheer H.B., Razzaq Z., Javaid A. Pharmacological screening and GC-MS analysis of vegetative/reproductive

- parts of *Nigella sativa* L. // Pak. J. Pharm. Sci. – 2020. – Vol. 33, No.5. – P. 2103–2111.
27. Parveen A., Farooq M.A., Kyunn W.W. A New Oleanane Type Saponin from the Aerial Parts of *Nigella sativa* with Anti-Oxidant and Anti-Diabetic Potential // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25, No.9. – Art. No.2171. DOI: 10.3390/molecules25092171.
28. Шарофова М.У., Нуралиев Ю.Н., Шабанов П.Д., Сагдиева Ш.С., Сухробов, П.Ш. Нуъмонов С.Р. Исследование антидиабетических свойств надземных частей чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2018. – Т. 21, № 10. – С. 112–118. DOI: 10.29296/25877313-2018-10-21.
29. Bourgou S., Ksouri R., Bellila A., Skandrani I., Falleh H., Marzouk B. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots // *C.R. Biol.* – 2008. – Vol. 331, No.1. – P. 48–55. DOI: 10.1016/j.crv.2007.11.001.
30. Borges A., Ferreira C., Saavedra M.J., Simões M. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria // *Microb. Drug. Resist.* – 2013. – Vol. 19, No.4. – P. 256–265. DOI: 10.1089/mdr.2012.0244.
31. Папаяни О.И., Духанина И.В., Сергеева Е.О. Изучение химического состава и антимикробной активности сухого экстракта из цветков бархатцев распростертых (*Tagetes patula* L.) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – № 5(3). С. 742–744.
32. Мубинов А.Р., Куркин В.А., Авдеева Е.В. Разработка подходов к стандартизации травы чернушки посевной // *Фармация*. – 2021. – Т. 86, №70. – С. 36–41. DOI: 10.29296/25419218-2021-08-06.
33. Куркин В.А., Куприянова Е.А. Сравнительное исследование флавоноидного состава листьев фармакопейных видов рода *Populus* // *Химия растительного сырья*. – 2020. – № 1. – С. 117–124. DOI: 10.14258/jcprm.2020015818.

АВТОРЫ

Мубинов Артур Рустемович – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, главный специалист НОЦ «Фармация» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-4791-4606. E-mail: a.r.mubinov@samsmu.ru

Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7513-9352. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Авдеева Елена Владимировна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии ФГБОУ ВО

СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8399-9328. E-mail: e.v.avdeeva@samsmu.ru

Колпакова Светлана Дмитриевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9358-4436. E-mail: Sdkolpakova@mail.ru

Жестков Александр Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-3960-830X. E-mail: avzhestkov2015@yandex.ru