

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО В СОЧЕТАНИИ С РАЗЛИЧНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ГИНЕКОЛОГИИ

**Е.А. Передерий, И.А. Юнусова**

Государственное учреждение Луганской Народной Республики «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки», г. Луганск, Луганская Народная Республика

Для цитирования: Передерий Е.А., Юнусова И.А. Изучение антимикробной активности густого экстракта листьев шалфея лекарственного в сочетании с различными веществами с целью создания лекарственного препарата для применения в гинекологии // Аспирантский вестник Поволжья. – 2018. – № 5–6. – С. 27–31. doi: 10.17816/2072-2354.2018.18.3.27-31

Поступила в редакцию: 07.08.2018

Принята к печати: 11.09.2018

- **Актуальность.** Инфекционно-воспалительные заболевания половых органов являются одним из факторов, которые ухудшают репродуктивное здоровье женщины. Лечение данных патологий направлено на эрадикацию патогенной микрофлоры, купирование воспаления и предупреждение поздних осложнений. В настоящее время альтернативой использованию химических антибактериальных препаратов для местного применения является использование природных антимикробных веществ в интравагинальных лекарственных формах. **Целью** данного исследования было получение данных об антимикробной активности густого экстракта листьев шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.) различной концентрации и в сочетании с различными веществами для дальнейшего обоснования состава суппозиториев вагинальных, применяемых в гинекологической практике. **Материалы и методы.** Антимикробную активность образцов изучали общепринятым в микробиологической практике методом диффузии в агар в модификации колодцев. Образцами для исследования выступали растворы густого экстракта листьев шалфея лекарственного в концентрациях от 0,25 до 1,25 % (табл.). Также были использованы модельные смеси густого экстракта листьев шалфея лекарственного с 1 и 0,5% растворами лимонной и бензойной кислот в различных комбинациях. **Результаты.** При увеличении концентрации густого экстракта в растворе отмечено усиление антимикробной активности. Однако повышение концентрации действующего вещества более 1 % нецелесообразно, так как увеличение антимикробного эффекта незначительно. При исследовании модельных смесей густого экстракта листьев шалфея лекарственного с 1 и 0,5 % растворами лимонной и бензойной кислот в различных комбинациях установлено, что максимальной антимикробной и противогрибковой активностью обладает образец, в состав которого входит 1 % раствора густого экстракта листьев шалфея лекарственного, лимонной и бензойной кислот. **Заключение.** Определены оптимальные концентрации активно действующих веществ для введения в состав вагинальных суппозиториев с целью достижения максимальной антимикробной и противогрибковой активности.
- **Ключевые слова:** густой экстракт листьев шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.); суппозитории вагинальные; инфекционно-воспалительные гинекологические заболевания.

## STUDY ON THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE THICK *SALVIA OFFICINALIS* LEAF EXTRACT IN COMBINATION WITH VARIOUS SUBSTANCES IN ORDER TO MAKE A MEDICINE FOR APPLYING IN GYNECOLOGY

**Ye.A. Perederii, I.A. Yunusova**

Lugansk State Medical University n.a. Saint Luke, Lugansk, Lugansk People's Republic

For citation: Perederii YeA, Yunusova IA. Study on the antimicrobial activity of the thick *Salvia officinalis* leaf extract in combination with various substances in order to make a medicine for applying in gynecology. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2018;(5-6):27-31. doi: 10.17816/2072-2354.2018.18.3.27-31

Received: 07.08.2018

Accepted: 11.09.2018

- **Relevance.** Infectious and inflammatory diseases of genitals is one of the factors that deteriorate female reproductive health. The treatment is aimed at eradication of pathogenic flora, resolution of infection and prevention of delayed sequela. Currently natural antimicrobial substances in intravaginal dosage forms has become an alternative for the



use of chemical antibacterial topical products. **Aim.** The purpose of this study was to obtain data on the antimicrobial activity of *Salvia officinalis* leaf extract of various concentrations and in combination with various substances for further substantiation of the vaginal suppositories' formulation used in gynecological practice. **Materials and methods.** The antimicrobial activity of the samples has been studied by the conventional procedure in microbiological practice by agar well diffusion method. Specimens were solutions of *Salvia officinalis* leaf extract in the concentration from 0.25% to 1.25% (table). Standard mixtures of *Salvia officinalis* leaf extract with 1% and 0.5% solutions of citric and benzoic acids in various combinations have been also used. **Results.** The enhancement of antimicrobial activity has been noted by means of increasing the extract concentration in the solution. However, an increase of reactant concentration of more than 1% is impractical as the increase in the antimicrobial effect is insignificant. Taking into account the standard mixtures of *Salvia officinalis* leaf extract with 1% and 0.5% solutions of citric and benzoic acids in various combinations, it has been found that the sample which includes 1% solutions of *Salvia officinalis* leaf extract, citric and benzoic acids has the highest possible antimicrobial and antifungal activity. **Conclusions.** The optimal concentrations of active substances for applying in the formulation of vaginal suppositories in order to achieve the highest possible antimicrobial and antifungal activity have been determined.

▪ **Keywords:** *Salvia officinalis* leaf extract; vaginal suppositories; infectious and inflammatory gynecological diseases.

## Актуальность

Инфекционно-воспалительные заболевания женских половых органов являются доминирующими в структуре гинекологических заболеваний [1].

Высокую социальную значимость и актуальность изучения данной патологии определяет то, что нередко инфекционно-воспалительные гинекологические заболевания возникают в молодом возрасте, довольно часто принимают хроническое течение, приводят к значительным нарушениям менструальной, половой, репродуктивной функций женского организма [11].

Все воспалительные процессы женских гениталий делят на неспецифические и вызванные инфекциями, передающимися половым путем [3]. Неспецифические воспалительные процессы связаны с условно-патогенными возбудителями (кишечная палочка, грибы Кандида, энтерококки, стафилококки, протеи, стрептококки, синегнойная палочка). В зависимости от характера микрофлоры влагалища, кислотности титра и количества лейкоцитов выделяют четыре степени чистоты влагалища. Первые две степени, которые характеризуются наличием палочек Дедерлейна, эпителиальных клеток, появлением лейкоцитов и граммположительных диплококков (вторая степень), а также кислой средой во влагалище, являются физиологическими. Третья и четвертая степени чистоты влагалища, как правило, свидетельствуют о наличии воспалительного процесса уrogenитального тракта, при этом среда во влагалище изменяется на щелочную, происходит значительное увеличение количества лейкоцитов, присоединение патогенных микроорганизмов [2].

Таким образом, можно предположить, что возникновение, степень тяжести, а также интенсивность развития инфекционно-вос-

палительных гинекологических заболеваний напрямую зависят от качественного и количественного состава микрофлоры.

Ключевыми аспектами в лечении рассматриваемых патологий можно назвать эрадикацию патогенной микрофлоры, купирование воспаления и предупреждение поздних осложнений. Немало важным направлением в лечении данных заболеваний является снижение риска нежелательных реакций, таких как резистентность штаммов микроорганизмов, дисбактериоз, аллергические реакции [10].

В настоящее время альтернативой использованию химических антибактериальных препаратов для местного применения является использование природных антимикробных веществ в интравагинальных лекарственных формах. Препараты на растительной основе ценят за ряд преимуществ: физиологичность, эффективность и безопасность при длительном лечении, минимальные побочные эффекты. Среди растительных экстрактов выраженной антимикробной активностью обладает густой экстракт листьев шалфея лекарственного.

Сегодня препараты из экстрактов шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.) широко применяют при лечении разных заболеваний [8]. Однако в литературе отсутствуют данные об исследованиях и разработке лекарственного препарата на основе густого экстракта листьев шалфея лекарственного для местного применения в гинекологии.

**Цель исследования** — оценка антимикробной активности густого экстракта листьев шалфея лекарственного различной концентрации, а также модельных смесей густого экстракта листьев шалфея лекарственного с различными веществами для дальнейшего обоснования состава суппозиторий вагинальных, применяемых в гинекологической практике.



## Материалы и методы

Густой экстракт листьев шалфея лекарственного для исследования готовили, ссылаясь на методику, разработанную группой ученых НФаУ (г. Харьков) и ЛГМУ (г. Луганск). Стадии получения экстракта включали в себя экстракцию растительного сырья этилацетатом, фильтрацию, упаривание, очищение путем растворения в трехкратном количестве гексана, с добавлением 4 % раствора сульфата цинка и сушкой [4–7]. В качестве источника растительного сырья был использован шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.), произрастающий в условиях Донбасса. Листья шалфея лекарственного были собраны и высушены согласно требованиям Государственной фармакопеи [12].

На базе СП «Фармацевтическая фабрика» ГУП ЛНР «Лугмедфарм» было проведено экспериментальное микробиологическое исследование *in vitro*. Антимикробную активность образцов изучали общепринятым в микробиологической практике методом диффузии в агар в модификации колодцев, основанным на способности активно действующих веществ диффундировать в агаровую среду, которую предварительно засевают микробной культурой.

Согласно требованиям нормативной документации в качестве тест-культур использовали стандартные штаммы ATCC (American Type Culture Collection — Американская коллекция типовых культур): *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885-653.

На основе 96 % спирта этилового для изучения зависимости антимикробной активности от концентрации активно действующе-

го вещества были приготовлены растворы с различной концентрацией экстракта листьев шалфея лекарственного: 0,25, 0,5, 0,75, 1,0, 1,25 %.

С целью исследования синергической зависимости веществ на основе 96 % спирта этилового приготовили 1 и 0,5 % растворы бензойной и лимонной кислот, а также модельные смеси экстракта листьев шалфея лекарственного с данными кислотами в различных комбинациях.

В слое питательного агара готовили лунки с помощью стерильного пробойника диаметром 8 мм. Испытуемые образцы вносили по 0,2 мл в лунки с помощью стерильных одноразовых шприцев. После внесения препаратов чашки Петри выдерживали при комнатной температуре в течение 1 часа, а затем помещали в термостат и инкубировали в течение 18 часов при температуре 35 °С. Об уровне антимикробной активности экспериментальных образцов судили по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов вокруг лунки после окончания инкубации [9].

## Результаты и их обсуждение

Результаты определения антимикробной активности исследуемых образцов отражены в таблице.

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что наиболее чувствительны к исследуемым образцам *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*. Как видно (табл., п. 1–5), при увеличении концентрации экстракта в растворе отмечено усиление антимикробной активности. Выраженную антимикробную активность оказывает экстракт листьев шалфея лекарственного в 1 % разведении. Однако дальнейшее повышение концентрации действующего ве-

Таблица / Table

Антимикробная активность исследуемых образцов ( $p < 0,05$ ;  $n = 6$ )

Antimicrobial activity of the test samples ( $p < 0,05$ ;  $n = 6$ )

№ образца	Состав образца	Наименование микроорганизмов					
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Salmonella abony</i> NCTC 6017	<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
<b>Зона задержки роста, мм</b>							
1	Экстракт листьев шалфея лекарственного 0,25 %	16,2 ± 0,8	8,0 ± 0,1	–	–	9,0 ± 0,2	19,8 ± 0,3
2	Экстракт листьев шалфея лекарственного 0,5 %	17,3 ± 0,4	10,2 ± 0,1	–	–	9,5 ± 0,6	20,0 ± 0,1
3	Экстракт листьев шалфея лекарственного 0,75 %	19,4 ± 0,3	9,0 ± 0,3	–	–	10,8 ± 0,2	20,0 ± 0,1



№ образца	Состав образца	Наименование микроорганизмов					
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Salmonella abony</i> NCTC 6017	<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
4	Экстракт листьев шалфея лекарственного 1 %	20,7 ± 0,4	9,2 ± 0,3	–	–	10,0 ± 0,3	20,2 ± 0,6
5	Экстракт листьев шалфея лекарственного 1,25 %	19,6 ± 0,5	10,2 ± 0,5	–	9,1 ± 0,1	11,1 ± 0,2	20,2 ± 0,1
6	Спирт этиловый 96 %	–	–	–	–	–	–
7	Экстракт листьев шалфея лекарственного 1 % Лимонная кислота 1 %	19,0 ± 0,2	8,1 ± 0,1	8,3 ± 0,2	–	9,1 ± 0,3	15,2 ± 0,2
8	Экстракт листьев шалфея лекарственного 1 % Лимонная кислота 0,5 %	20,1 ± 0,4	8,4 ± 0,1	9,0 ± 0,3	8,4 ± 0,1	9,9 ± 0,1	20,0 ± 0,3
9	Экстракт листьев шалфея лекарственного 1 % Бензойная кислота 1 %	19,0 ± 0,2	8,0 ± 0,1	–	–	11,2 ± 0,3	17,0 ± 0,1
10	Экстракт листьев шалфея лекарственного 1 % Бензойная кислота 0,5 %	18,1 ± 0,3	8,1 ± 0,1	8,0 ± 0,1	8,2 ± 0,1	12,3 ± 0,2	20,1 ± 0,2
11	Экстракт листьев шалфея лекарственного 1 % Лимонная кислота 1 % Бензойная кислота 1 %	25,3 ± 0,3	11,0 ± 0,3	11,2 ± 0,3	13,1 ± 0,1	16,5 ± 0,4	16,4 ± 0,3
12	Лимонная кислота 1 %	–	–	–	–	–	–
13	Бензойная кислота 1 %	–	–	–	–	–	–
14	Лимонная кислота 0,5 %	–	–	–	–	–	–
15	Бензойная кислота 0,5 %	–	–	–	–	–	–

Примечание. Исходный инокулум по стандарту Мак-Фарланда на денсифетре — 2,0, концентрация микроорганизма  $6 \cdot 10^8$ ; диаметр зоны задержки роста микроорганизма меньше 14–15 мм — устойчивый штамм; 15–18 мм — слабо чувствительный штамм; более 18 мм — чувствительный штамм; «–» отсутствие зоны задержки роста.

щества нецелесообразно, так как повышение антимикробного эффекта незначительно.

В ходе эксперимента была изучена синергическая зависимость экстракта листьев шалфея лекарственного, лимонной и бензойной кислот. Исследования 1 и 0,5 % растворов данных кислот показали отсутствие зоны задержки роста микроорганизмов (табл., п. 12–15). Также из таблицы видно (п. 7–10), что добавление лимонной или бензойной кислот не усиливает антимикробный эффект исследуемого экстракта. Однако совместное использование 1 % спиртового раствора экстракта листьев шалфея лекарственного, 1 % растворов лимонной и бензойной кислот проявляет самую высокую активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* (табл., п. 11), а значит, данное сочетание веществ является наиболее перспективным для вве-

дения в состав суппозиторий вагинальных с антибактериальным и противогрибковым эффектами.

### Выводы

1. Проведенными исследованиями подтверждено наличие синергической совместимости между исследуемыми веществами: экстрактом листьев шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.), лимонной и бензойной кислот.
2. Определены оптимальные концентрации активно действующих веществ для введения в состав вагинальных суппозиторий с целью достижения максимальной антимикробной и противогрибковой активности.

Конфликт интересов отсутствует.



## Список литературы

1. Баисова Б.И., Бижанова Д.А., Бреусенко В.Г., и др. Гинекология: учебник / Под ред. Г.М. Савельевой, В.Г. Бреусенко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. [Baisova BI, Bizhanova DA, Breusenko VG, et al. Ginekologiya: uchebnik. Ed. by G.M. Savel'eva, V.G. Breusenko. Moscow: GEOTAR-Media; 2014. (In Russ.)]
2. Микрофлора влагалища и воспалительные заболевания органов малого таза // Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз. – М.: МИА, 2012. – С. 306–319. [Mikroflora vlagalishha i vospalitel'nye zabolevaniya organov malogo taza. In: Kira EF. Bakterial'nyu vaginoz. Moscow: MIA; 2012. P. 306-319. (In Russ.)]
3. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. [Kishkun AA. Rukovodstvo po laboratornym metodam diagnostiki. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. P. 157-160. (In Russ.)]
4. Кошевой О.М., Передерий Е.А., Гудзенко О.П., и др. Перспективы создания нового антибактериального средства из листьев шалфея лекарственного // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – Т. 5. – № 1. – С. 33–35. [Koshevoy ON, Perederiy EA, Gudzenko AP, et al. The prospects of creation a new antibacterial drug from Salvia officinalis leaves. *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine*. 2010;5(1):33-35. (In Ukr.)]
5. Кошевой О.М., Передерий Е.А., Гудзенко О.П., и др. Оптимизация процесса этилацетатной экстракции биологически активных веществ из листьев шалфея лекарственного // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – Т. 5. – № 3. – С. 34–37. [Koshevoy ON, Perederiy EA, Gudzenko AP, et al. Optimization of the ethylacetate extractions process of biological active substances from Salvia officinalis leaves. *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine*. 2010;5(3):34-37. (In Ukr.)]
6. Кошевой О.М., Передерий Е.А., Кашченко И.С., и др. Перспективы получения густых модифицированных этилацетатных экстрактов из листьев шалфея лекарственного // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2011. – Т. 6. – № 3. – С. 118–122. [Koshevoy ON, Perederiy EA, Kashchenko IS, et al. The prospects of creation thick modified ethylacetate extracts from Salvia officinalis leaves. *Ukrainian Journal of Clinical and Laboratory Medicine*. 2011;6(3):118-122. (In Ukr.)]
7. Патент Украины на изобретение № 89924/ 10.03.2010, Бюл. № 5. Кошевой О.М., Передерий Е.А., Кухтенко О.С., и др. Спосіб одержання засобу з антимікробною активністю з цінеоловмісної рослинної сировини. [Patent of Ukraine No. 89924/ 10.03.2010, Byul. No. 5. Koshevoy ON, Perederiy EA, Kukhtenko OS, et al. Sposib oderzhannya zasobu z antimikrobnouu aktyvnistyu z tsineolovmisnoyi roslinnoyi syrovynny. (In Ukr.)]
8. Лесиовская Е.Е., Пастушенков Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии: учебное пособие. 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2003. [Lesiovskaya EE, Pastushenkov LV. Farmakoterapiya s osnovami fitoterapii: uchebnoe posobiye. 2<sup>nd</sup> ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2003. (In Russ.)]
9. ОФС 42-0068-07 «Определение антимикробной активности антибиотиков» // Государственная фармакопея Российской Федерации. – 12-е изд. Ч. 1. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2007. [OFS 42-0068-07 "Opredelenie antimikrobnouy aktivnosti antibiotikov". In: Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 12<sup>th</sup> ed. Part 1. Moscow: Nauchnyy tsentr ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya; 2007. (In Russ.)]
10. Пестрикова Т.Ю., Юрасова Е.А., Новик О.М. Поэтапная терапия рецидивирующего вагинального кандидоза и бактериального вагиноза // Сборник материалов межрегиональной научно-практической конференции акушеров-гинекологов «Современные аспекты этиопатогенеза и лечения заболеваний шейки матки»; Иркутск, 2008 г. – Иркутск, 2008. – С. 62–68. [Pestrikova TY, Yurasova EA, Novik OM. Poetapnaya terapiya retsidiviruyushchego vaginal'nogo kandidoza i bakterial'nogo vaginoza. In: Proceedings of the Interregional Scientific and Practical Conference of Obstetricians and Gynecologists "Sovremennye aspekty etiopatogeneza i lecheniya zabolevaniy sheyki matki"; Irkutsk, 2008. Irkutsk; 2008. P. 62-68. (In Russ.)]
11. Царева С.Н. Воспалительные заболевания женских половых органов в детском и подростковом возрасте: учебно-методическое пособие. – Минск: БГМУ, 2014. [Tsareva SN Vospalitel'nye zabolevaniya zhenskikh polovykh organov v detskom i podrostkovom vozraste: uchebn.-metod. posobie. SN Tsareva. Minsk: BGMU; 2014. P. 8-10. (In Russ.)]
12. pharmacopoeia.ru [интернет]. ФС.2.5.0051.15 Шалфея лекарственного листа [доступ от 24.11.2018]. Доступ по ссылке: <http://pharmacopoeia.ru/fs-2-5-0051-15-shalfeya-lekarstvennogo-listya/>. [Pharmacopoeia.ru [Internet]. FS.2.5.0051.15 Salvia officinalis leaves [cited 2018 Nov 24]. Available from: <http://pharmacopoeia.ru/fs-2-5-0051-15-shalfeya-lekarstvennogo-listya/>. (In Russ.)]

### ■ Информация об авторах

Евгений Алексеевич Передерий — кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой технологии лекарств, организации и экономики фармации. E-mail: oef.kafedra@yandex.ru.

Инна Алексеевна Юнусова — аспирант кафедры технологии лекарств, организации и экономики фармации. E-mail: i.a.tokovaya@gmail.com.

### ■ Information about the authors

Yevgeniy A. Perederiy — Candidate of Pharmacy, Associate Professor, Head of Department of Drug Technology, Organization and Economics of Pharmacy. E-mail: oef.kafedra@yandex.ru.

Inna A. Yunusova — Postgraduate student, Department of Drug Technology, Organization and Economics of Pharmacy. E-mail: i.a.tokovaya@gmail.com.