

А. Г. Струсовская¹, С. В. Поройский^{1,2}, О. Г. Струсовская^{1,2}

¹ Волгоградский государственный медицинский университет;

² ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», Волгоград

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА КОРНЯ БАРБАРИСА В ФОРМЕ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ

УДК 615.281.9:615.454.1:582.675.3:616.31

Лекарственные препараты, получаемые из растительного сырья, занимают важное место в современной медицине. Из обширной группы биологически активных веществ растительного происхождения выделяют алкалоиды протоберберинового ряда, основным представителем которых является берберин. Известно, что берберин обладает широким спектром биологической активности, в том числе антибактериальными свойствами, в отношении пародонтопатогенных бактерий, специфически подавляя рост *Porphyromonas gingivalis*. Пародонтит в настоящее время является социально-значимой патологией, затрагивающей все слои населения и получившей возможность развития уже в детском возрасте. Применяемые в терапии пародонтита препараты антибиотиков, могут привести к появлению резистентности микроорганизмов, поэтому актуальным является создание эффективной стоматологической лекарственной формы на основе данных изучения антимикробной активности экстрактов из лекарственного растительного сырья.

Ключевые слова: антибактериальная активность, барбарис, пародонтит, гель.

A. G. Strusovskaya¹, S. V. Poroykiy^{1,2}, O. G. Strusovskaya^{1,2}

DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE BARBARIS ROOT EXTRACT IN THE DENTAL GEL FORM

Medications derived from herbal raw materials occupy an important place in modern medicine. From the vast group of biologically active substances of plant origin, protoberberin alkaloids, the main representative of which is berberine, stand out. It is known that berberine has a broad spectrum of biological activity, including antibacterial properties against periodontopathogenic bacteria, specifically inhibiting the growth of *Porphyromonas gingivalis*. Nowadays, periodontitis is a socially significant pathology, affecting all segments of the population. It has the possibility of development since even childhood. Antibiotic drugs used in the periodontitis treatment can lead to the emergence of microorganisms resistance. That is why it is important to create an effective dental form based on data from the study of antimicrobial activity of medicinal plant materials extracts.

Key words: antimicrobial activity, berberis, periodontitis, gel.

Лекарственные препараты, получаемые из растительного сырья, занимают важное место в современной медицине. В России изучены и отнесены к лекарственным около 2500 видов высших растений. Тем не менее в научной медицине практически используется лишь около 250 видов.

Интерес к лекарственным растениям можно объяснить содержанием в них биологически активных веществ (БАВ), которые обладают значительно более мягким воздействием на макроорганизм по сравнению с синтетическими и полусинтетическими лекарственными средствами и тем, что природные БАВ в оптимальной дозе не оказывают нежелательных эффектов.

Среди природных фармакологически активных веществ алкалоиды относят к одной из основных групп природных БАВ, используемой в качестве источника высокоэффективных лекарственных средств. Из обширной группы алкалоидов растительного происхождения выде-

ляют алкалоиды протоберберинового ряда [2], основным представителем которых является берберин.

Известно, что берберин обладает широким спектром биологической активности, в том числе антибактериальными свойствами, в отношении пародонтопатогенных бактерий.

Так, например, было доказано специфическое подавление роста *Porphyromonas gingivalis* (штаммы ATCC и W83 в концентрации 0,05 мг/мл и 0,013 мг/мл соответственно), являющейся основным этиологическим агентом хронического пародонтита [5, 6, 7] и *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (штаммы Y4, NCTC 9710, ATCC 29523 в концентрации 0,013 мг/мл; 0,05 мг/мл и 0,2 мг/мл соответственно) под воздействием берберина. Механизм антибактериального действия алкалоида связывают с ингибированием берберином активности коллагеназ пародонтопатогенных бактерий. Алкалоид также проявляет бактериостатическое действие в отноше-

нии *Actinomyces naeslundii*, *Prevotella intermedia* (штамм ATCC 25611 в концентрации 0,025 мг/мл) и *Prevotella nigrescens* (штамм ATCC 25261 в концентрации 0,05 мг/мл) [4, 6].

Пародонтит – бактериально индуцированное, локализованное, хроническое воспалительное заболевание, приводящее к деструкции соединительной ткани и костной тканей зуба. В легкой и умеренной форме данной патологии подвержено 30–50 % взрослого населения, тяжелой хронической форме – до 15 %. Одним из основных возбудителей заболевания является *Porphyromonas gingivalis*, микроорганизм, относящийся к роду *Bacteroides* и представляющий собой неподвижную, грамотрицательную, анаэробную патогенную палочку.

Наиболее широко в терапии пародонтита в настоящее время применяют препараты антибиотиков, таких как клиндамицин, метронидазол и амоксициллин [3].

Вместе с тем интенсивное, но не всегда рациональное назначение антибиотиков привело к селекции и распространению множественно устойчивых штаммов микрофлоры, изменению структуры инфекции [1].

В связи с этим рациональным способом профилактики и лечения воспалительных заболеваний пародонта в неосложненной стадии является применение таргетных противомикробных средств на основе лекарственного растительного сырья, обладающего специфической антимикробной активностью в отношении пародонтопатогенных микроорганизмов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение антимикробной активности экстракта корня *Berberis vulgaris* L. *Berberidaceae* в отношении *Porphyromonas gingivalis*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование было направлено на тестирование *in vitro* чувствительности *P. gingivalis*, выделенной из пародонтальных карманов у взрослых пациентов с хроническим пародонтитом к экстракту корня барбариса в виде геля. Забор материала осуществляли у 10 пациентов в возрасте 35–45 лет с глубиной пародонтального кармана до 3 мм. С этой целью у каждого пациента после изоляции зубов ватным валиком десневую кривичулярную жидкость собирали путем введения двух бумажных штифтов в карман в течение 30 секунд. Затем штифты быстро переносили в 2 мл транспортную среду (бруцелла-бульон с добавлением 0,4 мкл/мл витамина K₁ и 5 мкг/мл гемина).

Выделение *P. gingivalis* из полученной бактериальной смеси проводили высеванием на чашки Петри с триптиказо-соевым агаром с до-

бавлением 10%-й дефибрированной крови лошади, 5 мкг/мл гемина и 0,4 мкл/мл витамина K₁. Чашки инкубировали в анаэробной атмосфере, содержащей 80 % N₂, 10 % CO₂ и 10 % H₂ в течение 7–10 дней. Колонии бактерий дифференцировали по размеру, цвету, форме, окрашиванию.

Отобранные колонии с черной пигментацией подвергали флуоресцентному тесту. Отсутствие флуоресценции позволило идентифицировать и разделить колонии *P. gingivalis* и другие пигментированные анаэробные грамотрицательные микроорганизмы.

Для получения экстракта, воздушно-высушенное сырье – корень барбариса, экстрагировали спиртом этиловым 70%-м в аппарате Сокслета в течение 6 часов. С этой целью сырье измельчали до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Соотношение «сырье – экстрагент» составляло 1:10. Полученный экстракт упаривали при 45 °С с применением роторного испарителя досуха. Остаток растворяли в горячей воде очищенной и фильтровали через фильтр «синяя лента». Содержание суммы протобербериновых алкалоидов в полученном экстракте в пересчете на берберин определяли методом УФ-спектрофотометрии, используя в качестве стандартного образца берберин (Sigma Aldrich).

Гель получали на основе натриевой соли альгиновой кислоты.

Минимальные ингибирующие концентрации (MIC) экстракта корня барбариса с содержанием суммы протобербериновых алкалоидов в геле в пересчете на берберин определяли в интервале концентраций 0,005–0,055 мг/мл с шагом 0,01 мг/мл.

Из тестовых культур *P. gingivalis* готовили инокулюм – бактериальную взвесь на стерильном физиологическом растворе и доводили до мутности 0,5 по Мак-Фарланду (1,5x10⁸ КОЕ/мл). Стерильной пипеткой переносили стандартную взвесь микроорганизма в количестве 0,1 мл в пробирки, содержащие одинаковое количество геля с экстрактом корня барбариса с концентрацией суммы протобербериновых алкалоидов от 0,005 до 0,055 мг/мл. Пробирки интенсивно встряхивали в течение 30 с и инокулировали в чашки Петри на твердую питательную среду – 5%-й кровяной агар. С помощью микропипетки наносили 0,1 мл взвеси микроорганизма с гелем с экстрактом барбариса на поверхность питательной среды и равномерно распределяли стерильным шпателем. Чашки Петри инкубировали в среде смеси газов: 80 % N₂, 10 % CO₂ и 10 % H₂ в течение 7 суток. После инкубации определяли интенсивность роста *P. gingivalis*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных исследований было установлено, что на чашках Петри с гелем, содержащем экстракт корня барбариса в концентрации менее 0,015 мг/мл в пересчете на берберин, наблюдался рост *P. gingivalis*.

В остальных образцах рост микроорганизма отсутствовал.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подавление роста *P. gingivalis* в концентрации экстракта барбариса 0,015 мг/мл в пересчете на берберин, в отличие от существующих литературных сведений (0,05 мг/мл для берберина), можно объяснить наличием синергизма антибактериального действия суммы протобербериновых алкалоидов. Экстракт корня барбариса является эффективным для лечения и профилактики воспалительных заболеваний пародонта и может быть использован в виде гидрогеля, исключая необходимость применения спирта этилового, что является неоспоримым преимуществом в терапии патологии в детском возрасте и гериатрической практике и предотвращает возможность появления антибиотикоустойчивых штаммов пародонтопатогенных микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галабуева А. И. Дифференцированное применение антибиотиков в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита: дис. ... канд. мед. наук / А. И. Галабуева. – М., 2005. – 146 с.
2. Тертичная Ю. М. Изучение метаболома суспензионной культуры василистника малого (*Thalictrum minus* L.) – продуцента протобербериновых алкалоидов: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Ю. М. Тертичная. – М., 2011. – 23 с.
3. Antibacterial susceptibility patterns of *Porphyromonas gingivalis* isolated from chronic periodontitis patients / A. Japoni [et al.] // *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* – 2011. – Vol. 16, № 7. – P. 1031–1035.
4. Hosseinnezhad M. Berberine gel in periodontal inflammation: clinical and histological effects / A. Moeintaghavi [et al.] // *Journal of Periodontology and Implant Dentistry.* – 2012. – Vol. 4, Iss. 1. – P. 7–11.
5. How, K. Y. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line / K. Y. How, K. P. Song, K. G. Chan // *Frontiers in Microbiology.* – 2016. – Vol. 7. – P. 1–14.
6. Hu J. P. *Coptidis rhizoma* inhibits growth and proteases of oral bacteria / J. P. Hu, N. Takahashi, T. Yamada // *Oral Diseases.* – 2000. – Vol. 6. – P. 297–302.
7. *Porphyromonas gingivalis*: its virulence and vaccine / N. Pandit [et al.] // *Journal of the International Clinical Dental Research Organization.* – 2015. – Vol. 7, Iss. 1. – P. 51–58.