



Оригинальная статья / Research article

Компонентный состав и противомикробная активность фракций из надземной части льнянки обыкновенной (*Linaria vulgaris* Mill.)

Т. В. Бомбела¹✉, О. А. Кроткова¹, Е. Е. Галишевская¹, А. Г. Анисимова¹,
Т. А. Ягонцева¹, А. В. Агафонцева¹, В. В. Новикова¹, А. К. Уэйли²,
А. О. Понкратова², В. Г. Лужанин¹

¹ ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СПбХУ Минздрава России), 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

✉ Контактное лицо: Бомбела Татьяна Владимировна. E-mail: tatyana.bombela@yandex.ru

ORCID: Т. В. Бомбела – <https://orcid.org/0000-0003-0414-0783>; О. А. Кроткова – <https://orcid.org/0000-0001-8724-2149>; Е. Е. Галишевская – <https://orcid.org/0000-0001-9388-333X>; А. Г. Анисимова – <https://orcid.org/0000-0002-0555-6804>; Т. А. Ягонцева – <https://orcid.org/0000-0002-0797-8314>; А. В. Агафонцева – <https://orcid.org/0000-0002-2586-1507>; В. В. Новикова – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>; А. К. Уэйли – <https://orcid.org/0000-0002-4847-5924>; А. О. Понкратова – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>; В. Г. Лужанин – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Статья поступила: 14.10.2022

Статья принята в печать: 08.12.2022

Статья опубликована: 27.12.2022

Резюме

Введение. Природные биологически активные вещества (БАВ) отличаются различной полярностью, которая обуславливает их физико-химические свойства, в том числе растворимость. Используя растворители различной полярности, можно влиять на спектр извлекаемых из растений БАВ, достигая их разделения по группам, а в дальнейшем добиваясь выделения в индивидуальном виде. В составе БАВ травы *Linaria vulgaris* Mill. – льнянки обыкновенной содержатся как липофильные, так и гидрофильные вещества. Трава *L. vulgaris* широко используется в народной медицине при ангине, конъюнктивите, дерматомикозе, парадонтозе и других заболеваниях, в патогенезе которых существенная роль отведена бактериальным факторам.

Цель. Исследовать влияние растворителей различной полярности на компонентный состав извлекаемых БАВ и противомикробную активность фракций из травы *L. vulgaris*.

Материалы и методы. Надземная часть *L. Vulgaris*, собранная в фазу цветения – начала плодоношения в июле 2021 году в Пермском крае. Фракции получены методом последовательной исчерпывающей жидкость-жидкостной экстракции спиртового извлечения из травы *L. vulgaris*: гексаном, дихлорметаном, *n*-бутанолом. Обнаружение БАВ проводили методом ВЭЖХ и планарной хроматографии на бумаге. Антимикробную активность изучали в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*.

Результаты и обсуждение. При использовании растворителей различной полярности из спиртового извлечения *Linaria vulgaris* получены четыре фракции: гексановая, дихлорметановая, бутанольная и водная, отличающиеся компонентным составом БАВ. Количество полифенольных веществ во фракциях увеличивается с увеличением полярности растворителя – гексан (14), дихлорметан (55), бутанол (61). Дихлорметановая и бутанольная фракция имеют схожий состав, представленный полифенольными соединениями и иридоидами. Основными группами соединений данных фракций являются фенолоксиолы и флавоноиды. Иридоиды обнаружены в следовых количествах. В гексановой фракции обнаружено наименьшее количество веществ, полностью отсутствуют иридоиды, в следовых количествах установлены фенолоксиолы. Водная фракция характеризуется содержанием всего комплекса БАВ. Наиболее высокая антибактериальная активность в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* установлена для водной фракции, тогда как наиболее выраженная противогрибковая активность характерна для гексановой и дихлорметановой фракции.

Заключение. При использовании растворителей различной полярности из спиртового извлечения *L. vulgaris* получены фракции, содержащие разнообразный набор БАВ. Разнополярные фракции *L. vulgaris* обладают антимикробной активностью в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, а также патогенных грибов из рода *Candida*.

Ключевые слова: *Linaria vulgaris*, ВЭЖХ-анализ, антибактериальная и противогрибковая активность

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Т. В. Бомбела, О. А. Кроткова, Е. Е. Галишевская, А. Г. Анисимова, Т. А. Ягонцева, А. В. Агафонцева, В. В. Новикова, А. К. Уэйли, А. О. Понкратова выполняли экспериментальную часть и интерпретировали результаты. В. Г. Лужанин осуществлял руководство научным исследованием. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 год.

Для цитирования: Бомбела Т. В., Кроткова О. А., Галишевская Е. Е., Анисимова А. Г., Ягонцева Т. А., Агафонцева А. В., Новикова В. В., Уэйли А. К., Понкратова А. О., Лужанин В. Г. Компонентный состав и противомикробная активность фракций из надземной части льнянки обыкновенной (*Linaria vulgaris* Mill.). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4–1):48–56. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-48-56](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-48-56)

© Бомбела Т. В., Кроткова О. А., Галишевская Е. Е., Анисимова А. Г., Ягонцева Т. А., Агафонцева А. В., Новикова В. В., Уэйли А. К., Понкратова А. О., Лужанин В. Г., 2022

© Bombela T. V., Krotkova O. A., Galishevskaya E. E., Anisimova A. G., Yagontseva T. A., Agafontseva A. V., Novikova V. V., Whaley A. K., Ponkratova A. O., Luzhanin V. G., 2022

Component Composition and Antimicrobial Activity of Fractions from the Aerial Part of Common Toadflax (*Linaria vulgaris* Mill.)

Tatyana V. Bombela¹✉, Olga A. Krotkova¹, Elena E. Galishevskaya¹, Alevtina G. Anisimova¹, Tatiana A. Yagontseva¹, Anastasiia V. Agafontseva¹, Valentina V. Novikova¹, Andrei K. Whaley², Anastasiia O. Ponkratova², Vladimir G. Luzhanin¹

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia

² Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

✉ **Corresponding author:** Tatyana V. Bombela. E-mail: tatyana.bombela@yandex.ru

ORCID: Tatyana V. Bombela – <https://orcid.org/0000-0003-0414-0783>; Olga A. Krotkova – <https://orcid.org/0000-0001-8724-2149>; Elena E. Galishevskaya – <https://orcid.org/0000-0001-9388-333X>; Alevtina G. Anisimova – <https://orcid.org/0000-0002-0555-6804>; Tatiana A. Yagontseva – <https://orcid.org/0000-0002-0797-8314>; Anastasiia V. Agafontseva – <https://orcid.org/0000-0002-2586-1507>; Valentina V. Novikova – <https://orcid.org/0000-0003-4475-4421>; Andrei K. Whaley – <http://orcid.org/0000-0002-4847-5924>; Anastasiia O. Ponkratova – <https://orcid.org/0000-0003-4879-9336>; Vladimir G. Luzhanin – <https://orcid.org/0000-0002-6312-2027>.

Received: 14.10.2022

Revised: 08.12.2022

Published: 27.12.2022

Abstract

Introduction. Natural biologically active substances (BAS) are distinguished by different polarity, which determines their physicochemical properties, including solubility. When using solvents of different polarity, it is possible to influence the spectrum of BAS extracted from plants, achieving their division into groups, and further achieving isolation in an individual form. The aerial part of *Linaria vulgaris* Mill. (common toadflax) contains both lipophilic and hydrophilic substances. The herb *L. vulgaris* is widely used in folk medicine for treatment of angina, conjunctivitis, dermatomycosis, periodontitis and other diseases. Bacterial factors play an important role in the pathogenesis of these diseases.

Aim. To study the effect of solvents of different polarity on the component composition of extracted BAS and to study the antimicrobial activity of fractions from the herb *L. vulgaris*.

Materials and methods. The aerial part of *L. vulgaris* was collected at the flowering stage – at the beginning of fruiting stage in July 2021 in the Perm region. The fractions were obtained by sequential exhaustive liquid-liquid extraction of an alcoholic extract from the herb *L. vulgaris* with hexane, dichloromethane, and *n*-butanol. Detection of BAS was carried out by HPLC and planar chromatography on paper. Antimicrobial activity was studied against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*.

Results and discussion. Using solvents of different polarity four fractions were obtained from the alcohol extract of *L. vulgaris*: hexane, dichloromethane, *n*-butanol and water. These fractions have differences in the composition of BAS. The number of polyphenolic substances in the fractions increases with increasing of solvent polarity: hexane (14), dichloromethane (55), butanol (61). The dichloromethane and *n*-butanol fractions have a similar composition, represented by polyphenolic compounds and iridoids. The main groups of compounds in these fractions are phenolic acids and flavonoids. Iridoids are found in trace amounts. In the hexane fraction, the smallest number of substances was found, iridoids are completely absent, and phenolic acids were found in trace amounts. The water fraction is characterized by the content of the entire BAS complex. The highest antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was found for the aqueous fraction, while the highest antifungal activity was found for the hexane and dichloromethane fractions.

Conclusion. Using solvents of different polarity, fractions containing a diverse set of BAS were obtained from the alcoholic extract of *L. vulgaris*. Fractions exhibiting different polarities from *L. vulgaris* have antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, as well as against pathogenic fungi from the genus *Candida*.

Keywords: *Linaria vulgaris*, HPLC, antibacterial and antifungal activity

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Tatyana V. Bombela, Olga A. Krotkova, Elena E. Galishevskaya, Alevtina G. Anisimova, Tatiana A. Yagontseva, Anastasiia V. Agafontseva, Valentina V. Novikova, Andrei K. Waley, Anastasiia O. Ponkratova performed the experimental part and processing of the results. Vladimir G. Luzhanin supervised the scientific research. All authors took part in the discussion of the results.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2022.

For citation: Bombela T. V., Krotkova O. A., Galishevskaya E. E., Anisimova A. G., Yagontseva T. A., Agafontseva A. V., Novikova V. V., Whaley A. K., Ponkratova A. O., Luzhanin V. G. Component composition and antimicrobial activity of fractions from the aerial part of common toadflax (*Linaria vulgaris* Mill.). *Drug development & registration*. 2022;11(4–1):48–56. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-48-56](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-48-56)

ВВЕДЕНИЕ

Linaria vulgaris Mill. (льнянка обыкновенная) – многолетнее травянистое растение, которое распространено в Европе, Азии, Западной Сибири, на Дальнем Востоке [1, 2]. Согласно филогенетической системе классификации цветковых растений, разработанной А. Л. Тахтаджаном, род *Linaria* принадлежит к семейству *Scrophulariaceae* – норичниковые [2, 3], одна-

ко, на основании данных о последовательности нуклеиновых кислот, широко используемых в настоящее время в молекулярно-филогенетической систематике, данный род отнесен к семейству *Plantaginaeae* – подорожниковые [4, 5].

Состав биологически активных соединений травы *L. vulgaris* разнообразен и представлен как неполярными (липофильными), так и полярными (гидрофиль-

ными) веществами. Среди липофильных соединений обнаружены жиры, жирные кислоты [6–9], а гидрофильные соединения представлены дубильными веществами, фенолокислотами, флавоноидами, иридоидами [8, 9].

Природные биологически активные вещества (БАВ) отличаются различной полярностью, которая обуславливает их физико-химические свойства, в том числе растворимость. Используя растворители различной полярности, можно влиять на спектр извлекаемых веществ, достигая их разделения по группам БАВ, а в дальнейшем выделять в индивидуальном виде. Биологическая активность суммы БАВ и выделенных соединений может существенно различаться и быть разнонаправленной [10–13]. Экспериментально установлено, что линариин, выделенный из травы *L. vulgaris*, оказывает гипотензивное действие [14], в то время как сумма флавоноидов из травы *L. vulgaris*, в составе которой присутствует линариин, повышает артериальное давление, увеличивает амплитуду сердечных сокращений и замедляет ритм [15].

Трава *L. vulgaris* широко используется в народной медицине при заболеваниях глаз (конъюнктивит, блефарит), горла (ангина) и кожи (дерматит, дерматомикоз, сыпь, экзема, псориаз, фурункулез) [16, 17]. Настой травы льнянки обыкновенной в стоматологии используется в виде аппликаций и полосканий при абсцедирующей форме парадонтоза и грибковых поражениях слизистой оболочки полости рта [18].

Экспериментально установлено, что водный экстракт *L. vulgaris* проявляет антибактериальную активность [17], фунгицидное и противовоспалительное действие [18]. Спиртовой экстракт *L. corifolia* обладает антибактериальными свойствами в отношении грамположительных бактерий, а также оказывает выраженное действие против кислотоустойчивой бактерии *Mycobacterium smegmatis*, в сравнении с цефотоксимом (СТХ30). Кроме того, спиртовые экстракты листьев, цветков, стеблей и корней проявляли противогрибковое действие, в отношении *Kluyveromyces fragilis* [19].

Известно, что существенную роль в патогенезе ряда офтальмологических, дерматологических и стоматологических заболеваний играют бактериальные факторы, а именно патогенные бактерии и грибы. Поиск и создание противомикробных лекарственных средств растительного происхождения является в настоящее время актуальным направлением медицины и фармации, данной проблеме посвящен ряд исследовательских работ [20–23].

Таким образом, **целью настоящего исследования** является изучение влияния растворителей различной полярности на компонентный состав извлекаемых БАВ и изучение противомикробной активности полученных фракций из травы *L. vulgaris*, в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Надземная часть *Linaria vulgaris*, собранная в фазу цветения – начала плодоношения в июле 2021 году в Пермском крае (Краснокамский район, п. Оверята), была высушена воздушно-теневым способом, измельчена и просеяна через сито с диаметром отверстий 2 мм.

Навеску сырья (500,0) подвергали многократной экстракции 96%-м этиловым спиртом (5000 мл) в течение 24 часов при комнатной температуре. Полученные извлечения объединяли, упаривали при 60 °С, до приблизительного объема 200 мл, после чего полученное извлечение подвергалось последовательной исчерпывающей жидкость-жидкостной экстракцией [24]. Первый этап проводился равным количеством гексана (фракция 1), до его полного обесцвечивания, затем для продолжения жидкость-жидкостной экстракции к спиртовому извлечению добавляли 50 мл воды очищенной. Второй этап осуществляли аналогично с равным количеством дихлорметана (фракция 2). В заключении жидкость-жидкостная экстракция проводилась с равным количеством бутанола (фракция 3). Остаточную водную (фракция 4) и три полученных фракции выпаривали до приблизительного объема 100 мл. Для изучения выхода извлекаемых веществ, часть гексановой, дихлорметановой, бутанольной и водной фракции, достаточной для анализа (10 мл), выпаривали досуха, остаток взвешивали.

Предварительный анализ компонентного состава фенольных соединений и иридоидов в полученных фракциях изучали методом восходящей одномерной бумажной хроматографии [в системе *n*-бутанол:уксусная кислота:вода (4:1:2)]. Для идентификации фенольных соединений хроматограммы просматривали в УФсвете, до и после обработки парами аммиака, а также после проявления хромогенными реактивами.

Кроме того, обнаружение БАВ во фракциях проводили методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония), оснащенном диодноматричным детектором, при 235 и 254 нм. Применялась хроматографическая колонка SUPELCOSIL™ LC-18 (25 см × 4,6 мм) с размером частиц 5 мкм. Скорость потока элюента 1 мл/мин. Температура анализа 40 °С. Элюент: вода (компонент А), ацетонитрил (компонент В) с содержанием ТФУ 0,1 % [с H₂O:CH₃CN (5:95) до H₂O:CH₃CN (0:100), по объему]. Объем вводимой пробы 10 мкл.

В качестве стандартных соединений использовались стандарты образцы (СО) *p*-кумаровой кислоты, синаповой, сиреневой, кофейной, ванилиновой, феруловой, розмариновой, хлорогеновой и гентизиновой, апигенина, аукубин, линарин, линариин и этилгаллат (Sigma-Aldrich, США), а также выделенные индивидуальные соединения, структура которых была установлена в ранее проведенных исследованиях: кемпферол [25], эпикатехин [26].

Идентификация соединений производилась по сопоставлению времени удерживания и УФ-спектров пиков во фракциях, с теми же параметрами стандартных образцов и ранее выделенных соединений.

Противогрибковую и антибактериальную активность соединений определяли микрометодом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде в 96-луночных планшетах [27] в двух повторях. Скрининг противомикробной активности осуществляли в отношении референтных (типовых) штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* NCTC 885-653. Концентрация исследуемых соединений в первой лунке ряда разведений в питательной среде составила 5000,0 мкг/мл. Для определения антибактериальной активности использовали питательный бульон (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск), для определения противогрибковой активности – бульон Сабуро (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск). Для приготовления взвеси дрожжевых культур применяли двухсуточные культуры, выращенные на агаре Сабуро. Для определения антибактериальной активности использовали суточные культуры, выращенные на питательном агаре. Концентрация микробных клеток в опыте составила 2–5 × 10⁵ КОЕ/мл. В качестве положительного контроля использовали питательную среду с внесенной исследуемой культурой. В качестве отрицательного контроля использовали интактную питательную среду. Посевы инкубировали в термостате при температу-

ре 35 ± 2 °С. Оценку роста микроорганизмов проводили визуально через 20–24 ч инкубирования. В качестве значения МИК (минимальной ингибирующей концентрации) принимали концентрацию соединения в последней прозрачной лунке серии разведения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика использованных растворителей и полученных фракций приведена в таблице 1. Из полученных данных следует, что полярность растворителей оказывает влияние на количественный выход извлекаемых веществ из травы льнянки обыкновенной. С увеличением полярности растворителя выход веществ увеличивается.

На основании результатов хроматографического анализа в исследуемых фракциях обнаружено более шестидесяти природных соединений (таблицы 2, 3). Количество полифенольных веществ во фракциях увеличивается с увеличением полярности растворителя – гексан (14), дихлорметан (55), бутанол (61). При идентификации вещества отнесены к трем группам соединений – фенолоксилоты, флавоноиды и иридоиды.

Установлено, что исследуемые группы БАВ извлекаются различными растворителями неравномерно, характер их распределения зависит, в том числе и от полярности. Дихлорметановая и бутанольная фракция имеют схожий состав, представленный полифенольными соединениями и иридоидами.

Таблица 1. Характеристика растворителей и фракций из травы *Linaria vulgaris*

Table 1. Performance of solvents and fractions from the herb *Linaria vulgaris*

№	Фракция Fraction	Характеристика растворителя Performance of solvent			Характеристика фракции Performance of fractions	Выход веществ, % Substance yield, %
		Растворитель Solvent	Дипольный момент Dipole moment	Диэлектрическая постоянная Dielectric constant		
1	Гексановая Hexane	Гексан Hexane	0	1,90	Вязкая жидкость темно-зеленого цвета, с характерным запахом Dark green viscous liquid with a characteristic odor	0,6
2	Дихлорметановая Dichloromethane	Дихлорметан Dichloromethane	1,62	9,08	Жидкость темно-коричневого цвета с кристаллообразными включениями белого цвета, с характерным запахом Dark brown liquid with white crystalline inclusions, with a characteristic odor	1,4
3	Бутанольная Butanol	n-Бутанол n-Butanol	1,66	17,80	Двухфазная среда: верхняя фаза – светло-коричневая жидкость, нижняя – рыхлый творожистый осадок оранжевого цвета. Имеет характерный запах бутанола Two-phase medium: the upper phase is a light-brown liquid, the lower one is a friable cheesy orange sediment. It has a characteristic smell of butanol	5,3
4	Водная Water	Вода Water	1,85	80,0	Жидкость темно-бурого цвета с кристаллообразными включениями белого цвета Dark brown liquid with white crystalline inclusions	5,8

Таблица 2. Люминесцентно-хроматографическая характеристика БАВ фракций из травы *Linaria vulgaris*
Table 2. Luminescent-chromatographic performance of BAS of fractions from the herb *Linaria vulgaris*

Соединение Compound	Значение R_f БУВ 4:1:2 Value R_f BAW 4:1:2	Окраска Stain			Реактив Гепфнера Geffner reagent	Фракции Fractions				Стандартные соединения (значения R_f) Standard substances (R_f)	
		УФ-свет UV light	УФ + NH_3 UV + NH_3	AlCl_3 , 5% AlCl_3 , 5%		1	2	3	4		
Полифенольные соединения Polyphenolic compounds											
1	0,38	бледно-голубая pale blue	ярко-голубая bright blue	-	коричневая brown	-	-	-	-	+	
2	0,45	голубая blue	ярко-голубая bright blue	-	коричневая brown	-	-	-	-	+	
3	0,78	голубая blue	-	-	коричневая brown	-	+	-	-	-	Феруловая кислота (0,78) Ferulic acid (0,78)
4	0,22	фиолетовая purple	фиолетовая purple	желтая yellow	-	-	-	-	-	+	
5	0,55	бледно-фиолетовая pale purple	фиолетовая purple	светло-желтая light yellow	-	-	+	+	+	+	Линарин (0,57) Linarin (0,57)
6	0,62	фиолетовая purple	ярко-фиолетовая bright purple	желтая yellow	-	-	+	+	+	+	
7	0,66	фиолетовая purple	фиолетовая purple	желтая yellow	-	-	+	+	+	-	
8	0,68	фиолетовая purple	фиолетовая purple	желтая yellow	-	-	-	-	-	-	Линарин (0,68) Linarin (0,68)
9	0,75	темно-фиолетовая dark purple	темно-фиолетовая dark purple	желтая yellow	-	-	+	+	+	-	
10	0,83	бледно-фиолетовая pale purple	фиолетовая purple	желтая yellow	-	-	-	+	+	-	Апигенин (0,84) Apigenin (0,84)

		Иридоиды Iridoids										Стандартные соединения (значение R _y) Substances (R _y)						
Соединение Compound	Значение R _y БУВ 4:1:2 Value R _y BAW 4:1:2	Окраска Stain						Фракции Fractions				1	2	3	4			
		Реактив Бакона – Эдельмана Bacon – Edelman reagent		Реактив Штала Stahl reagent		Реактив Трим – Хилла Trim – Hill reagent		1	2	3	4							
		Видимый Visible light	УФ-свет UV light	Видимый Visible light	УФ-свет UV light	Видимый Visible light	УФ-свет UV light											
1	0,12	коричневая brown	ярко-коричневая bright brown	синяя blue	ярко-синяя bright blue	бледно-желтая pale yellow	бледно-голубая pale blue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,19	коричневая brown	ярко-коричневая bright brown	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,26	коричневая brown	ярко-коричневая bright brown	сиреневая lilac	ярко-сиреневая bright lilac	бледно-желтая pale yellow	бледно-голубая pale blue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0,34	бледно-коричневая pale brown	коричневая brown	бледно-синяя pale blue	бледно-синяя pale blue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	0,35	бледно-коричневая pale brown	коричневая brown	бледно-синяя pale blue	бледно-синяя pale blue	-	-	-	-	-	-	-	-	сл. sl.	-	-	-	-
6	0,42	-	-	сине-зеленая blue-green	бледно-синяя pale blue	бледно-синяя pale blue	бледно-синяя pale blue	-	-	-	-	-	-	-	-	-	сл. sl.	+

Таблица 3. Полифенольные соединения фракций из травы *Linaria vulgaris*

Table 3. Polyphenolic compounds of fractions from the herb *Linaria vulgaris*

№	Стандартные соединения Standard substances	Время удерживания, мин Retention time, min	УФ-спектры, λ_{\max} , нм UV spectrum, λ_{\max} , nm	Номер фракции Number of fraction			
				1	2	3	4
<i>Фенолокислоты</i> <i>Phenolic acids</i>							
1	<i>p</i> -Кумаровая кислота <i>p</i> -Coumaric acid	18,75	275 пл, 311 275 pl, 311	–*	+*	+	сл. sl.
2	Синаповая кислота Synapic acid	19,85	328	–	+	+	сл. sl.
3	Сиреневая кислота Syringic acid	17,06	267, 294	–	сл. sl.	+	сл. sl.
4	Кофейная кислота Caffeic acid	16,4	287 пл, 324 287 pl, 324	–	сл. sl.	+	–
5	Ванилиновая кислота Vanillic acid	16,31	267, 294	–	+	+	–
6	Феруловая кислота Ferulic acid	19,83	280 пл, 323 280 pl, 323	сл. sl.	+	+	–
7	Розмариновая кислота Rosmarinic acid	21,48	280 пл, 329 280 pl, 329	сл. sl.	+	+	–
8	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	15,58	282 пл, 328 282 pl, 328	–	–	+	сл. sl.
9	Гентизиновая кислота Gentisic acid	15,81	333			–	+
<i>Флавоноиды</i> <i>Flavonoids</i>							
10	Кемпферол Kaempferol	20,08	265, 347	–	+	+	+
11	Апигенин Apigenin	25,99	267, 335	–	+	+	–
12	Эпикатехин/катехин Epicatechin/catechin	15,26	279	–	–	–	+
13	Этилгаллат Ethylgallate	18,68	272	–	–	–	+
Всего обнаружено соединений: Total compounds found:				14	55	61	39
Идентифицировано: Identified:				2	9	10	8

Примечание. * «+» – наличие соединений; «–» – отсутствие соединений.

Note. * "+" – the presence of connections; "-" – no connections.

В их составе обнаружено более пятидесяти компонентов, из которых идентифицировано десять. Основными группами соединений, данных фракций являются фенолокислоты и флавоноиды. Иридоиды обнаружены в следовых количествах. Из группы фенолокислот идентифицированы ванилиновая, феруловая, розмариновая, *p*-кумаровая, синаповая, сиреневая, кофейная и хлорогеновая кислоты; из флавоноидов – апигенин, кемпферол, линарин и линариин.

В гексановой фракции обнаружено наименьшее количество веществ, полностью отсутствуют иридоиды, в следовых количествах установлены и идентифицированы феруловая и розмариновая кислоты, а также идентифицированы пики веществ относящиеся к пигментам (хлорофилл).

Водная фракция характеризуется содержанием всего комплекса установленных БАВ. Обнаружено более тридцати веществ из группы полифенолов и пять веществ иридоидной природы. На основании спектральных данных и в сравнении с референтными образцами идентифицированы гентизиновая кислота, катехин, этилгаллат, аукубин. Синаповая, *p*-кумаровая, сиреневая, хлорогеновая кислоты обнаружены в следовых количествах.

Установлено, что антимикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов обладают исследованные фракции (таблица 4). С увеличением полярности растворителя антимикробная активность в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* усиливается, в ряду гексан –

Таблица 4. Антимикробная активность фракций из травы *Linaria vulgaris*

Table 4. Antimicrobial activity of fractions from the herb *Linaria vulgaris*

№	Фракции Fraction	Минимальная подавляющая концентрация, мкг/мл Minimum inhibitory concentration, µg/mL		
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
1	Гексановая Hexane	2500/2500	2500/2500	625/625
2	Дихлорметановая Dichloromethane	1250/625	2500/2500	625/625
3	Бутанольная Butanol	625/312	1250/1250	2500/1250
4	Водная Water	312/312	625/625	2500/1250

дихлорметан – бутанол – вода. Наиболее высокая антибактериальная активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов установлена для водной фракции.

Антибактериальная активность водной фракции, вероятно объясняется наличием в ней веществ гидрофильной природы – иридоидов, которые установлены в водной фракции в количестве шести соединений, в отличие от других фракций. Известно, что иридоиды оказывают антимикробное действие [28].

Анализируя влияние полученных фракций на противогрибковую активность установлено, что наиболее выраженная противогрибковая активность в отношении *Candida albicans* характерна для гексановой и дихлорметановой фракции. Увеличение полярности растворителя не приводит к существенному ее изменению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При использовании растворителей различной полярности из спиртового извлечения *Linaria vulgaris*, получены четыре фракции: гексановая, дихлорметановая, бутанольная и водная, отличающиеся разнообразным набором биологически активных компонентов. Дихлорметановая и бутанольная фракция имеют схожий состав, представленный полифенольными соединениями и иридоидами. В гексановой фракции обнаружено наименьшее количество веществ, полностью отсутствуют иридоиды. Водная фракция характеризуется содержанием всего комплекса БАВ.

Разнополярные фракции *Linaria vulgaris* обладают антимикробной активностью в отношении грамположительных *Staphylococcus aureus* и грамотрицательных *Escherichia coli* микроорганизмов, а также патогенных грибов из рода *Candida*. Наиболее высокая антибактериальная активность в отношении *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* установлена для водной фракции, тогда как наиболее выраженная противогрибковая активность характерна для гексановой и дихлорметановой фракции.

ЛИТЕРАТУРА

- Chater A. O., Valdes B., Webb D. A. *Linaria* Mill. Flora Europaea. Cambridge. 1972;3:226–236.
- Флора Европейской части СССР. Л.: Наука; 1981. 380 с.
- Takhtajan A. L. Outline of the classification of flowering plants (*Magnoliophyta*). *The Botanical Review*; 1980;3(46):225–359.
- An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical journal of the Linnean Society*. 2003;4(141):399–436.
- Shehata A. A., Loutfy M. H. A. On the Taxonomy of Plantaginaceae Juss. *Sensu Lato*: evidence from SEM of the Seed Coat. *Turkish journal of botany*; 2006;2(30):71–84.
- Петриченко В. М. Состав высших жирных кислот масла семян некоторых видов сем. *Scrophulariaceae*. *Растительные ресурсы*. 2006;42(4):49–55.
- Hua H., Li X., Xing S. E., Pei Y. H. Chemical constituents of *Linaria vulgaris*. *Chinese Pharmaceutical Journal*. 2005;40:653–656.
- Cheriet T., Mancini I., Seghiri R., Benayache F., Benayache S. Chemical constituents and biological activities of the genus *Linaria* (*Scrophulariaceae*). *Natural Product Research*. 2015;29(17):1589–1613, DOI: 10.1080/14786419.2014.999243.
- Lahloub M F. Flavonoid, phenylpropanoid and iridoid glycosides of *Linaria haelava* (Forssk.) Dil. *Mansoura J Pharm Sci*. 1992;8:78–95.
- Kuang W., Zhang X., Lan Z. Flavonoids extracted from *Linaria vulgaris* protect against hyperlipidemia and hepatic steatosis induced by western-type diet in mice. *Archives of Pharmacol Research*. 2018;41:1190–1198. DOI: 10.1007/s12272-017-0941-y.
- Botalova A., Bombela T., Zubov P., Segal M., Korkotian E. The flavonoid acetylpectolarin counteracts the effects of low ethanol on spontaneous network activity in hippocampal cultures. *Journal of ethnopharmacology*. 2019;229:22–28. DOI: 10.1016/j.jep.2018.09.040.
- Ma C., Higashi N., Ishiguro K., Zhao Y., Zhang L., Zhao C., Cheng M., Oku H. Allergy-preventive effects of linarinic acid and its tetrahydropyrrolo[2,1-b]quinazoline derivatives isolated from *Linaria vulgaris*. *Journal of Natural Medicines*. 2018;72(2):582–587. DOI: 10.1007/s11418-018-1187-9.
- Zhang Y., Wan C., Song Z., Meng W., Wang S., Lan Z. Pectolarinigenin reduces the expression of sterol regulatory element-binding proteins and cellular lipid levels. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 2022;86(9):1220–1230. DOI: 10.1093/bbb/zbac095.
- Рабинович М. И. Лекарственные растения в ветеринарной практике. М.: Агропромиздат; 1987. 156 с.
- Рабинович М. И. Сердечно-сосудистое действие суммы флавоноидов льнянки обыкновенной. Материалы X научной конференции по фармакологии. 2 часть. Москва. 1966. С. 94–95.
- Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства Caprifoliaceae – Plantaginaceae. Л.: Наука; 1990. 328 с.
- Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. СПб., М: Товарищество научных изданий КМК; 2012.

18. Марченко А. И., Баранюк А. И., Левицкая Е. В., Соколовская Е. П. Лекарственные растения в стоматологии. Кишинев: Штиинца; 1981. 192 с.
19. Gonuz A., Dujger B., Kargioglu M. The morphological, anatomical properties and antimicrobial activity of endemic *Linaria corifolia* Desf. (Scrophulariaceae) in Turkey. *Pak J Biol Sci.* 2005;8:220–226.
20. Лужанин В. Г., Уэйли А. К., Понкратова А. О., Новикова В. В., Безверхняя Е. А. Противомикробная активность соединений полифенольной природы. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2022;11(2):65–72. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-65-72.
21. Андреева И. С. Сравнительная оценка антимикробной активности некоторых перспективных лекарственных растений. Растительный мир Азиатской России. *Вестник Центрального сибирского ботанического сада СО РАН.* 2018;1:91–99.
22. Nafis A., Saad F. E., Khalloufi F. E., Kasrati A., Abbad A., Mezrioui N., Oudra B., Vasconcelos V., Hassani L. New insight into antimicrobial activities of *Linaria ventricosa* essential oil and its synergetic effect with conventional antibiotics. *Archives of microbiology.* 2021;203(7):4361–4366. DOI: 10.1007/s00203-021-02391-7.
23. Górniak I., Bartoszewski R., Króliczewski J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews.* 2019;18:241–272. DOI: 10.1007/s11101-018-9591-z.
24. Понкратова А. О., Уэйли А. К., Орлова А. А., Смирнов С. Н., Серебряков Е. Б., Лужанин В. Г. Выделение и установление структуры трех димерных проантоцианидинов типа А из надземной части *Empetrum nigrum* L. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(2):80–86. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-80-86.
25. Лужанин В. Г., Уэйли А. К., Понкратова А. О., Гришукова Е. А., Сулоев И. С., Смирнов С. Н., Серебряков Е. Б. Выделение индивидуальных соединений из надземной части стальника полевого (*Ononis arvensis* L.) и золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.). *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2021;10(1):83–89. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89.
26. Уэйли А. К., Понкратова А. О., Орлова А. А., Серебряков Е. Б., Смирнов С. Н., Прокш П., Ионов Н. С., Поройков В. В., Лужанин В. Г. Фитохимический анализ вторичных метаболитов полифенольной природы в листьях морозники обыкновенной (*Rubus chamaemorus* L.). *Химико-фармацевтический журнал.* 2021;55(3):22–27. DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-3-22-27.
27. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
28. Гусев Н. Ф., Немерешина О. Н. Бактериостатическая активность иридоидов вероник Предуралья. *Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина.* 2012;10(5):73–78.
10. Kuang W., Zhang X., Lan Z. Flavonoids extracted from *Linaria vulgaris* protect against hyperlipidemia and hepatic steatosis induced by western-type diet in mice. *Archives of Pharmacol Research.* 2018;41:1190–1198. DOI: 10.1007/s12272-017-0941-y.
11. Botalova A., Bombela T., Zubov P., Segal M., Korkotian E. The flavonoid acetylpectolarin counteracts the effects of low ethanol on spontaneous network activity in hippocampal cultures. *Journal of ethnopharmacology.* 2019;229:22–28. DOI: 10.1016/j.jep.2018.09.040.
12. Ma C., Higashi N., Ishiguro K., Zhao Y., Zhang L., Zhao C., Cheng M., Oku H. Allergy-preventive effects of linarinic acid and its tetrahydropyrrolo[2,1-b]quinazoline derivatives isolated from *Linaria vulgaris*. *Journal of Natural Medicines.* 2018;72(2):582–587. DOI: 10.1007/s11418-018-1187-9.
13. Zhang Y., Wan C., Song Z., Meng W., Wang S., Lan Z. Pectolarinigenin reduces the expression of sterol regulatory element-binding proteins and cellular lipid levels. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry.* 2022;86(9):1220–1230. DOI: 10.1093/bbb/zbac095.
14. Rabinovich M. I. Medicinal plants in veterinary practice. Moscow: Agropromizdat. 1987. 156 p. (In Russ.)
15. Rabinovich M. I. Cardiovascular effect of the sum of flavonoids of toadflax. Materials of the X scientific conference on pharmacology. 2 part. Moscow. 1966. P. 94–95. (In Russ.)
16. Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use. Families Caprifoliaceae – Plantaginaceae. Leningrad: Nauka; 1990. 328 p. (In Russ.)
17. Plant resources of Russia: Wild flowering plants, their composition and biological activity. St. Petersburg, Moscow: Tovarishestvo nauchnyh izdanij KMK; 2012. (In Russ.)
18. Marchenko A. I., Baranyuk A. I., Levitskaya E. V., Sokolovskaya E. P. Medicinal plants in dentistry. Kishinev: Shtiintsa; 1981. 192 p. (In Russ.)
19. Gonuz A., Dujger B., Kargioglu M. The morphological, anatomical properties and antimicrobial activity of endemic *Linaria corifolia* Desf. (Scrophulariaceae) in Turkey. *Pak J Biol Sci.* 2005;8:220–226.
20. Luzhanin V. G., Whaley A. K., Ponkratova A. O., Novikova V. V., Bezverkhniaia E. A. Antimicrobial Activity of Polyphenolic Compounds. *Drug development & registration.* 2022;11(2):65–72. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-2-65-72.
21. Andreeva I. S. Comparative evaluation of antimicrobial activity of some promising medicinal plants. Flora of Asian Russia. *Vestnik Central'nogo sibirskogo botanicheskogo sada SO RAN.* 2018;1:91–99. (In Russ.)
22. Nafis A., Saad F. E., Khalloufi F. E., Kasrati A., Abbad A., Mezrioui N., Oudra B., Vasconcelos V., Hassani L. New insight into antimicrobial activities of *Linaria ventricosa* essential oil and its synergetic effect with conventional antibiotics. *Archives of microbiology.* 2021;203(7):4361–4366. DOI: 10.1007/s00203-021-02391-7.
23. Górniak I., Bartoszewski R., Króliczewski J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews.* 2019;18:241–272. DOI: 10.1007/s11101-018-9591-z.
24. Ponkratova A. O., Whaley A. K., Orlova A. A., Smirnov S. N., Serebryakov E. B., Luzhanin V. G. Isolation and Structure Elucidation of Three Dimeric A-type Proanthocyanidins from *Empetrum Nigrum* L. *Drug development & registration.* 2021;10(2):80–86. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-2-80-86.
25. Luzhanin V. G., Whaley A. K., Ponkratova A. O., Grishukova E. A., Suloev I. S., Smirnov S. N., Serebryakov E. B. Isolation of Individual Compounds from the Terrestrial Parts of *Ononis Arvensis* L. and *Solidago Canadensis* L. *Drug development & registration.* 2021;10(1):83–89. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-83-89.
26. Whaley A. K., Ponkratova A. O., Orlova A. A., Serebryakov E. B., Smirnov S. N., Proksh P., Ionov N. S., Poroikov V. V., Luzhanin V. G. Phytochemical analysis of secondary metabolites of polyphenolic nature in the leaves of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.). *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal.* 2021;55(3):22–27. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2021-55-3-22-27.
27. Mironov A. N. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ.)
28. Gusev N. F., Nemereshina O. N. Bacteriostatic activity of iridoids of speedwells of Cis-Urals. *Vestnik NGU. Seriya: Biologiya, klinicheskaya medicina;* 2012;10(5):73–78. (In Russ.)

REFERENCES

1. Chater A. O., Valdes B., Webb D. A. *Linaria* Mill. *Flora Europaea.* Cambridge. 1972;3:226–236.
2. Flora of the European part of the USSR. Leningrad: Nauka; 1981. 380 p. (In Russ.)
3. Takhtajan A. L. Outline of the classification of flowering plants (*Magnoliophyta*). *The Botanical Review;* 1980;3(46):225–359.
4. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical journal of the Linnean Society.* 2003;4(141):399–436.
5. Shehata A. A., Loutfy M. H. A. On the Taxonomy of Plantaginaceae Juss. *Sensu Lato: evidence from SEM of the Seed Coat.* *Turkish journal of botany;* 2006;2(30):71–84.
6. Petrichenko V. M. The composition of higher fatty acids in seed oil of some species of the family *Scrophulariaceae.* *Rastitel'nye resursy.* 2006;42(4):49–55. (In Russ.)
7. Hua H., Li X., Xing S. E., Pei Y. H. Chemical constituents of *Linaria vulgaris*. *Chinese Pharmaceutical Journal.* 2005;40:653–656.
8. Cheriet T., Mancini I., Seghiri R., Benayache F., Benayache S. Chemical constituents and biological activities of the genus *Linaria* (Scrophulariaceae). *Natural Product Research.* 2015;29(17):1589–1613. DOI: 10.1080/14786419.2014.999243.
9. Lahloub M. F. Flavonoid, phenylpropanoid and iridoid glycosides of *Linaria haelava* (Forssk.) Dil. *Mansoura J Pharm Sci.* 1992;8:78–95.