

# ФАРМАКОЛОГИЯ

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОПОЛИСА

Е.А. Данилина<sup>1</sup>, Э.Г. Кравцов<sup>2</sup>,  
Е.Ю. Бабаева<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Кафедра управления и экономики фармации

<sup>2</sup>Кафедра микробиологии и вирусологии

<sup>3</sup>Кафедра ботаники, физиологии растений и агробиотехнологии  
Российский университет дружбы народов  
ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

Изучена антимикробная активность образцов прополиса из разных регионов с помощью нескольких методик. Показано, что только методика, изложенная в ГОСТ Р 53124-2008 «Прополис. Антимикробная активность», дает корректный результат. Максимальная противомикробная активность выявлена в образце из Луганской области Украины. Установлено, что водорастворимая часть водно-спиртового экстракта прополиса не обладает антимикробной активностью.

**Ключевые слова:** прополис, антимикробная активность.

Прополис — это продукт пчеловодства, представляющий собой смесь смолистых, фенольных веществ, терпеноидов, воска и других соединений природного происхождения. Благодаря широкому спектру биологической активности соединений, входящих в состав прополиса, лекарственные препараты из него используются современной медициной и ветеринарией [8]. Состав прополиса сложен и полностью не изучен [5; 7]. При контроле качества прополиса используется ряд органолептических показателей (цвет, запах и др.), что не соответствует современным требованиям.

По данным некоторых источников, прополис предлагается стандартизовать по минимальной подавляющей концентрации его извлечений относительно микроорганизмов. На одни виды микробов прополис оказывает бактериостатический эффект, на другие — бактерицидный. Например, минимальные бактерицидные концентрации в отношении культур *Staphylococcus aureus* 209P варьируют между 110 и 1680 мкг/мл. По-видимому, для гарантии наиболее широких антибиотиче-

ских свойств прополиса, включающих бактерицидный и бактериостатический эффекты, стандартизация должна быть одновременно основана на обоих показателях антимикробного действия [9]. В РФ действует ГОСТ Р 53124-2008 «Прополис. Антимикробная активность». Он устанавливает метод определения минимальной подавляющей концентрации водно-спиртового экстракта прополиса (в пересчете на сухую массу прополиса) в диапазоне от 100 до 600 мкг/мл для характеристики его антимикробной активности в отношении *Staphylococcus aureus* 209P (FDA 209P, ATCC 6538P) [1].

**Целью работы** является изучение антимикробной активности образцов прополиса из разных регионов. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1) оценивали возможность использования метода дисков для определения бактериостатической активности спирторастворимого и водорастворимого компонентов прополиса;

2) оценивали корректность метода разведений при определении бактериостатического действия спиртового экстракта прополиса;

3) проводили стандартизацию образцов прополиса по бактериостатической активности методом, регламентированным ГОСТ Р 53124-2008.

**Материалы и методы.** Объектами исследования были образцы прополиса из двух регионов РФ (Орловской и Московской (2 образца) областей), а также из Черниговской и Луганской областей Украины. Для определения противомикробного действия опытных образцов был использован референс-штамм *Staphylococcus aureus* 209P из коллекции кафедры микробиологии и вирусологии РУДН. Его культивировали на агаре Мюллера-Хинтона (МХА). Для проведения опытов изначально из образцов прополиса готовили 5% водно-спиртовое извлечение, для чего к 100 мл 70% этанола добавляли навеску 5 г измельченного образца, выдерживали 2 дня при комнатной температуре и периодическом встряхивании, фильтровали.

С целью получения из спиртового экстракта водорастворимого компонента 1 мл его высушивали, добавляли 1 мл воды, и затем в водном растворе определяли концентрацию веществ по сухой массе. Наличие спиртового экстракта послужило основанием к привлечению разных способов оценки их бактериостатической активности. В работе использовали метод дисков. С его помощью изучали спиртовые экстракты и их водорастворимые компоненты.

Принимая во внимание то, что бактерицидным действием обладает экстрагент (70% этанол), перед использованием пропитанные изучаемым раствором диски высушивали и только после этого наносили на засеянный газон.

В опытах с использованием метода разведений в ряд пробирок с жидким мясопептонным бульоном (МПБ) с добавлением глюкозы до концентрации раствора 2,5% вносили по 25 мкл спиртового экстракта прополиса в разных концентрациях. В качестве контроля в последнюю пробирку вносили 25 мкл 70% этанола.

Все пробирки засеивали бактериологической петлей взвесью *Staphylococcus aureus* 209P, содержащей стандартную концентрацию микробных клеток.

Третьим способом, примененным для определения бактериостатической активности, был способ, регламентированный ГОСТ Р 53124-2008. Он заключается в том, что в расплавленную агаризованную среду, разлитую по 5 мл в ряд пробирок, вносили разные концентрации раствора исследуемого образца. После перемешивания среду выливали в чашки Петри, где она застывала. Чашки подсушивали 15 мин. и засеивали газонной тест-культурой *Staphylococcus aureus* 209P в концентрации, оттитрованной по стандарту мутности ( $10^{-4}$ ).

В таком варианте опыта удастся исключить бактерицидное действие этанола. В то же время, поскольку рост тест-культуры происходит на среде, содержащей растворимые в этаноле компоненты образца, в случае их бактериостатического действия можно зарегистрировать задержку роста культуры и определить действующую концентрацию тестируемого образца.

**Результаты и их обсуждение.** При определении бактерицидной активности образцов прополиса методом дисков было установлено, что вокруг дисков, обработанных спиртовым экстрактом всех образцов, не образуются зоны задержки роста *Staphylococcus aureus* 209P. Это исключало бактериостатическую активность тех компонентов, которые после высушивания дисков могли диффундировать в гель, т.е. водорастворимых компонентов водно-спиртового экстракта, и в то же время не исключало бактериостатическое действие спирторастворимых компонентов, остающихся на дисках.

С целью уточнения данного заключения образцы прополиса исследовали методом разведений. Оказалось, что при внесении в жидкую питательную среду водно-спиртовых экстрактов образцов в разных разведениях рост тест-культуры отсутствовал. При этом не было роста и в контроле, где вместо экстракта прополиса был внесен растворитель, что говорит о бактериостатической активности самого растворителя (70% этанол), в связи с чем невозможно оценить эффективность прополиса.

Иной эффект наблюдался, когда в среду вносили водорастворимый компонент водно-спиртового экстракта. Тест-культура давала рост во всех пробирках, в том числе в контрольной. Это позволило считать, что водорастворимый компонент не обладает бактериостатическим действием, даже в высоких его концентрациях (600 мкг/мл).

Тем не менее, некоторые авторы не исключают бактериостатической активности водорастворимой субстанции прополиса, но только в том случае, когда для ее получения применяют специальные методы, например, электролиз в водной среде [2—4].

Следует отметить, что подобная обработка прополиса приводит к его денатурации в результате гидролиза и окисления некоторых биологически активных веществ.

Из всех использованных в данной работе методов способ определения противомикробной активности прополиса, предлагаемый действующим регламентом, оказался наиболее репрезентативным. Все исследуемые образцы вызывали задержку роста культуры *Staphylococcus aureus* 209P. Интенсивность задержки коррелирует с концентрацией раствора анализируемого образца, т.е. в данной постановке опыта можно было определить минимальную бактериостатическую активность образца.

Во всех опытах контроль на бактериостатический эффект растворителя был отрицательным. Это указывает на испарение этанола, который содержался в экстракте образца при внесении в расплавленный агар. Были проведены испытания пяти образцов прополиса. Они показали, что все образцы обладали бактериостатической активностью. Минимальная концентрация экстракта образцов, подавляющая рост культуры *Staphylococcus aureus* 209P, представлена на рис. 1.

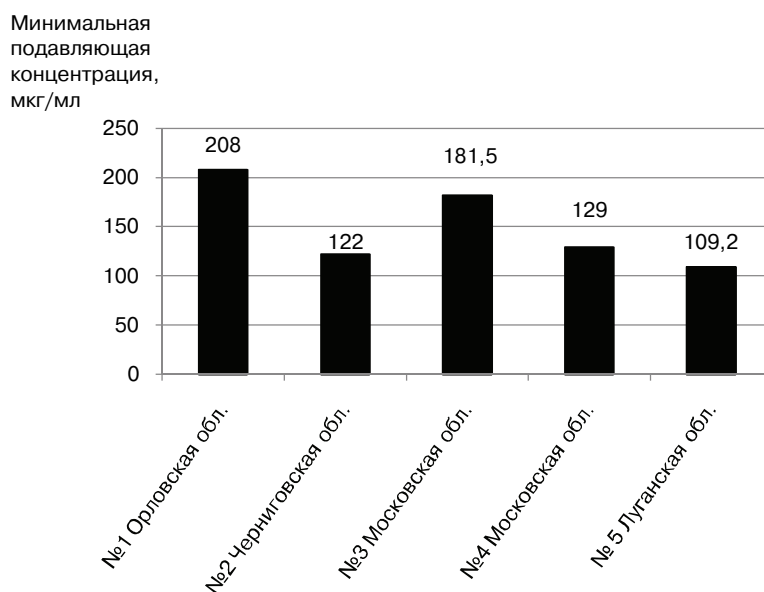


Рис. 1. Минимальная подавляющая концентрация образцов прополиса

Из этих данных следует, что активность экстрактов образцов прополиса находится в диапазоне, предусмотренном ГОСТом (от 600 до 100 мкг/мл). Наибольшей активностью обладал образец из Луганской области, у которого минимальная подавляющая рост *Staphylococcus aureus* 209P доза составляла 109,2 мкг/мл. Наименьшая активность была у образца прополиса из Орловской области, у которого этот показатель составил 208 мкг/мл.

По итогам исследования антимикробной активности прополиса можно сказать, что он активен в отношении золотистого стафилококка. Румынские исследователи также отмечают, что лучшая чувствительность к 5% водно-спиртовому извлечению прополиса (растворитель 70% этанол) у грамположительных бактерий, в том числе у *Staphylococcus aureus* 209P [6].

## Заключение

В ходе исследования было выявлено, что все образцы прополиса обладают антибактериальной активностью по отношению к золотистому стафилококку, а их минимальная подавляющая концентрация составляет 109—208 мкг/мл, что соответствует диапазону измерений, указанных в ГОСТ Р 53124-2008 (от 100 до 600 мкг/мл). Для определения антимикробной активности прополиса следует использовать ГОСТ Р 53124-2008 «Прополис. Антимикробная активность». Бактериостатическая активность водорастворимого компонента спиртового экстракта прополиса использованными методами не выявлена.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] ГОСТ Р 53124-2008 Прополис. Антимикробная активность. М.: ФГУП Изд-во Стандартиформ, 2008.
- [2] *Иванов Ц.И., Шкендеров С.В.* Пчелиные продукты. София: Земиздат, 1983.
- [3] *Корнева Н.В., Орлов Б.Н.* Прополис и воск — пчелам и человеку. Н. Новгород: Изд. Ю.А. Николаев, 2009.
- [4] *Омаров Ш.М.* Апитерапия: продукты пчеловодства в мире медицины. Ростов н/Д: Феникс, 2009.
- [5] *Da Silva F.C., Favaro-Trindade C.S., Severino M. de Alencar et al.* Physicochemical properties, antioxidant activity and stability of spray-dried propolis // *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 3 (2): 94—100 (2011).
- [6] *Marghitas L.A., Mihai C.M., Chirila F. et al.* The Study of the Antimicrobial Activity of Transylvanian (Romanian) Propolis. Marghitas, L. Al. Et al. / *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 38 (3) 2010, 40—44.
- [7] *Sawaya A.C.H. Frankland; da Silva C., Ildenize B. et al.* Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis // *Sawaya et al. Chemistry Central Journal*. 2011. Vol. 5. Issue 1. P. 27.
- [8] *Sforcin J.M., Vassya B.* Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? // *Journal of Ethnopharmacology*. 2011. 133. P. 253—260.

## REFERENCES

- [1] GOST R 53124-2008 Propolis. Antimicrobial activity. Publ House Standartinform. Moscow, 2008.
- [2] *Ivanov Ts.I., Shkenderov S.V.* Bees products. Sofia: Zemizdat, 1983.
- [3] *Kornev N.V., Orlov B.N.* Propolis and beeswax — for bees and humans. N. Novgorod: Publ. Yu.A. Nikolaev, 2009.
- [4] *Omarov Sh.M.* Apitherapy: bee products in medicine. Rostov-on-Don: Phoenix, 2009.
- [5] *Da Silva F.C., Favaro-Trindade C.S., Severino M. de Alencar et al.* Physicochemical properties, antioxidant activity and stability of spray-dried propolis // *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 3 (2): 94—100 (2011).
- [6] *Marghitas L.A., Mihai C.M., Chirila F. et al.* The Study of the Antimicrobial Activity of Transylvanian (Romanian) Propolis. Marghitas, L.Al. et al. / *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 38 (3) 2010, 40—44.
- [7] *Sawaya A.C.H. Frankland; da Silva C., Ildenize B. et al.* Analytical methods applied to diverse types of Brazilian propolis // *Sawaya et al. Chemistry Central Journal*. 2011. Vol. 5. Issue 1. P. 27.
- [8] *Sforcin J.M., Vassya B.* Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*. 2011. 133. P. 253—260.

## **STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROPOLIS**

**Е.А. Danilina<sup>1</sup>, Е.Г. Kravtsov<sup>2</sup>,  
Е.Ю. Babaeva<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Department of management and economics of pharmacy

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Virology

<sup>3</sup>Department of botany, physiology and agrobiotechnology

People's Friendship University of Russia

*Miklukho-Maklaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198*

Antibacterial activity of propolis samples from different regions using several techniques has studied. It is shown that only the methodology outlined in the GOST R 53124-2008 "Propolis. Antimicrobial activity", gives a correct result. The maximum antimicrobial activity has been detected in the sample from the Lugansk region, Ukraine. It has been established that the water-soluble portion of alcoholic extract of propolis has no antimicrobial activity.

**Key words:** propolis, antimicrobial activity.