

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Գինուվյան Միքայել Մարտիկի

**ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՖԼՈՐԱՅԻ ՈՐՈՇ ԴԵՂԱԲՈՒՅՍԵՐԻ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ
ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ**

Գ.00.04 - Կենսաքիմիա մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի
հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2017

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Гиноян Микаел Мартикович

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕКОТОРЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
АРМЯНСКОЙ ФЛОРЫ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.04 – Биохимия

Ереван 2017

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝

ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ,
կ.գ.դ., պրոֆեսոր Ա.Հ. Թոշունյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝

ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ,
գ.գ.դ., պրոֆեսոր Ս.Խ. Մայրապետյան
կ.գ.դ. Գ.Յու. Մարմարյան

Առաջատար կազմակերպություն՝

ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիայանի անվան
կենսաքիմիայի ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը տեղի կունենա 2018թ. հունվարի 24-ին, ժամը 14⁰⁰-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՒՀ-ի կենսաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2017թ. դեկտեմբերի 20-ին

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. թեկ., դոցենտ

Մ.Ա. Փարսադանյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете.

Научный руководитель:

член-корреспондент НАН РА,
д.б.н., профессор А.А. Трчунян

Официальные оппоненты:

член-корреспондент НАН РА,
д.с.-х.н., профессор С.Х. Майрапетян
д.б.н. Г.Ю. Мармарян

Ведущая организация:

Институт биохимии им. Г. Буниатяна НАН РА

Защита диссертации состоится 24 января 2018г., в 14⁰⁰ часов, на заседании Специализированного совета 051 по биофизике ВАК РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукяна 1, ЕГУ, факультет биологии).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат диссертации разослан 20 декабря 2017 г.

Ученый секретарь специализированного совета,
канд. биолог. наук, доцент

М. А. Парсаданян

ԱՇԽԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐ

Թեմայի արդիականությունը: Մանրէային վարակիչ հիվանդությունների տարածվածությունը ողջ աշխարհում շարունակաբար մեծանում է, ինչը մեծապես պայմանավորված է մանրէների կողմից հակաբիոտիկների նկատմամբ կայունության ձեռքբերման հետ (WHO 2014): Հակաբիոտիկ կայունությունը 20-րդ դարի վերջից սկսած դարձել է մարդկության մեծագույն խնդիրներից մեկը: Գնալով մեծանում է նոր հակամանրէային նյութերի նկատմամբ պահանջարկը (Silva et al. 2016; Barbieri et al. 2017): Առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության կողմից ներկայումս խնդիր է դրված հայտնաբերել կամ սինթեզել նոր հակաբիոտիկներ, որոնք հնարավորություն կտան արդյունավետորեն պայքարել հակաբիոտիկ կայուն (հատկապես բազմադեղային կայուն) ախտածին բակտերիաների դեմ (WHO 2017):

Նոր հակաբիոտիկների հայտնաբերման ամենախոստումնալից աղբյուրներից կարող են լինել բուսական օրգանիզմները, նկատի ունենալով նաև այն, որ դեռևս հնագույն ժամանակներից դրանք հաջողությամբ կիրառվել են տարբեր վարակային հիվանդությունների բուժման նպատակով (Abreu et al. 2012; Srivastava et al. 2014; Subramani 2017): Բույսերից անջատված հակամանրէային նյութերը, շնորհիվ իրենց բնական ծագման, համարվում են նաև անվտանգ (Rajeh et al. 2010; Upadhyay et al. 2014): Մյուս կողմից բուսական հակամանրէային միացությունները, ավանդական հակաբիոտիկների համեմատ, կարող են ունենալ միկրոօրգանիզմների նկատմամբ ազդման այլ թիրախներ և հետևաբար ազդեցության տարբերվող մեխանիզմներ (Ahmad and Beg 2001; Upadhyay et al. 2014; WHO 2014): Բուսական ծագման հակամանրէային միացությունների կարևորագույն առանձնահատկություններից է նաև դրանց նկատմամբ մանրէների կողմից կայունության ձեռքբերման դեպքերի բացակայությունը (Srivastava et al. 2014; Subramani 2017):

Բույսերի հակամանրէային ազդեցությունը հիմնականում պայմանավորված է նրանց երկրորդային արգասիքներով (Barbieri et al., 2017; Savoia, 2012): Բուսական հակամանրէային ազդեցությամբ օժտված միացությունների հիմնական խմբերն են ֆենոլները և պոլիֆենոլները (ֆլավոնոիդներ, քինոններ, տանիններ, կումարիններ և այլն), տերպենոիդները, ալկալոիդները, սապոնինները, ստերոիդները, լեկտինները և պոլիպեպտիդները (Barbieri et al., 2017; Nabavi et al., 2015; Saxena et al., 2013):

Չնայած փոքր տարածքին, Հայաստանի ֆլորան մեծ բազմազանություն ունի, որը սակայն քիչ է ուսումնասիրված հակամանրէային ակտիվության տեսանկյունից: Միևնույն ժամանակ Հայաստանը ավանդական բժշկության հարուստ փորձ ունի: Հետևաբար Հայաստանի ֆլորայի ուսումնասիրությունը նոր հակամանրէային միացությունների հայտնաբերման տեսանկյունից մեծ կարևորություն է ներկայացնում և հիմք է հանդիսացել աշխատանքի պլանավորման և իրականացման համար:

Ուսումնասիրության նպատակներն ու խնդիրները: Աշխատանքի նպատակն էր Հայաստանի ֆլորայից առանձնացնել առավել բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված դեղաբույսեր և ուսումնասիրել դրանց կենսաքիմիական առանձնահատկությունները:

Այդ նպատակի իրականացման համար հետազոտություններում սահմանվել են հետևյալ խնդիրները.

1. ՀՀ տարածքից ընտրել, հավաքել և նույնականացնել ժողովրդական բժշկության մեջ լայնորեն օգտագործվող դեղաբույսեր, որոնք, համաձայն իրենց կիրառման, կարող են ունենալ հակամանրէային ակտիվություն,
2. Ուսումնասիրել հավաքված բուսատեսակների և դրանց տարբեր օրգանների լուծամզվածքների հակաբակտերիական և հակախմորասնկային ակտիվությունը որոշ գրամ-դրական և գրամ-բացասական բակտերիաների ու խմորասնկերի նկատմամբ և հետագա աշխատանքների համար ընտրել առավել բարձր ակտիվությամբ օժտված բուսատեսակները,
3. Պարզել ընտրված բույսերի լուծամզվածքների կենսաքիմիական կազմը,
4. Ուսումնասիրել ընտրված բուսատեսակների հակամանրէային ազդեցությունը պայմանավորող միացությունների ջերմակայունությունը,
5. Որոշել ընտրված բուսատեսակների տարբեր լուծամզվածքների ՆԱԿ և ՆԲԿ/ՆՍԿ արժեքները տարբեր մանրէների նկատմամբ,
6. Հետազոտել ընտրված բուսատեսակների տարբեր լուծամզվածքների հակավիրուսային ակտիվությունը,
7. Ուսումնասիրել ընտրված բույսերի լուծամզվածքների մոդուլացնող ակտիվությունը տարբեր հակառադիկալային նկատմամբ,
8. Գնահատել հետազոտվող բույսերի հակառադիկալային ակտիվությունը:
9. Անջատել բույսերի լուծամզվածքների հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված ֆրակցիաները և պարզել դրանցում առկա միացությունների քիմիական բնույթը, անջատել և նույնականացնել բույսերի լուծամզվածքներում պարունակվող կենսաբանորեն ակտիվ միացությունները:

Աշխատանքի գիտական նորույթն ու գիտագործնական նշանակությունը:

Աշխատանքի ընթացքում Հայաստանի ֆլորայի 28 բուսատեսակների և դրանց տարբեր օրգանների հակամանրէային ակտիվության գնահատման արդյունքում առանձնացվել են բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ չորս տեսակի դեղաբույսեր՝ *Agrimonia eupatoria* L., *Hypericum alpestre* subsp. *polygonifolium* (Rupr.) Avet. & Takht., *Rumex obtusifolius* L. և *Sanguisorba officinalis* L.: Ցույց են տրվել դրանց տարբեր լուծամզվածքների բարձր հակաբակտերիական, հակասնկային, հակավիրուսային, հակառադիկալային ակտիվությունները: Այդ բույսերը կարող են ունենալ մեծ կիրառական նշանակություն սննդի կենսապահպանման ոլորտում, օգտագործվել որպես սննդային հավելումներ, ինչպես նաև՝ հիմք ծառայել նոր հակամանրէային և հակաօքսիդանտային միացությունների անջատման համար:

Պարզվել է հետազոտվող բույսերի հակամանրէային ազդեցության բնույթը, ընդ որում դրանցից երեքի դեպքում (*A. eupatoria*, *S. officinalis* ու *H. alpestre*) մանրէասպան ակտիվությունը ցույց է տրվել առաջին անգամ:

Ցույց է տրվել հետազոտվող չորս բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքների բարձր հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվությունը գենտամիցինի, տետրացիկլինի, կանամիցինի, ամպիցիլինի և էրիթրոմիցինի նկատմամբ: Հետևաբար, որպես հակաբիոտիկների ակտիվության խթանիչներ օգտագործելու դեպքում, դրանք կարևոր կիրառական նշանակություն կարող են ունենալ:

Առաջին անգամ կատարվել է հետազոտվող բույսերում պարունակվող հակամանրէային միացությունների ջերմակայունության ուսումնասիրություն, և պարզվել է *S. officinalis* ու *H. alpestre* բույսերի լուծամզվածքներում պարունակվող հակամանրէային միացությունների բարձր ջերմակայունությունը, ինչպես նաև *R. obtusifolius* և *A. eupatoria* հակամանրէային միացությունների համապատասխանաբար միջին ջերմակայունությունը ու ջերմազգայունությունը, ինչը թույլ կտա բուսական նյութի մշակման ժամանակ կիրառել համապատասխան ջերմաստիճանային պայմաններ:

Կատարվել են ընտրված բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքների որակական և քանակական ֆիտոքիմիական հետազոտություններ և ցույց է տրվել երկրորդային նյութափոխանակության արգասիքների լայն սպեկտրով ներկայացվածությունը, բացառությամբ՝ ալկալոիդների և սրտային գլիկոզիդների:

Հետազոտվող բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքներում նույնականացվել են կենսաբանորեն ակտիվ մի շարք միացություններ, որոնք կարևոր դեր կարող են ունենալ գոմարային հակամանրէային և հակառադիկալային ակտիվության դրսևորման մեջ:

Պաշտպանությանը ներկայացվող հիմնական դրույթները:

- *A. eupatoria*, *H. alpestre.*, *R. obtusifolius* և *S. officinalis* բուսատեսակների լուծամզվածքների հակամանրէային ակտիվության դրսևորման մեջ դեր ունեցող միացությունների բնույթը, միջին երկարության շղթայով ճարպաթթուների, տերպենոիդների, ֆենոլային միացությունների, ալկալոիդների և որոշ արոմատիկ միացությունների դերը՝ *A. eupatoria*, *H. alpestre.*, *R. obtusifolius* և *S. officinalis* բույսերի հակամանրէային և հակառադիկալային ակտիվության դրսևորման մեջ,
- *S. officinalis* ու *H. alpestre* բուսատեսակների լուծամզվածքներում պարունակվող հակամանրէային միացությունների ջերմակայունությունը, *R. obtusifolius* և *A. eupatoria* լուծամզվածքներում պարունակվող հակամանրէային միացությունների համապատասխանաբար միջին ջերմակայունությունը և ջերմազգայունությունը,
- *A. eupatoria*, *H. alpestre.*, *R. obtusifolius* և *S. officinalis* բույսերի լուծամզվածքների հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվությունը գենտամիցին, տետրացիկլին, կանամիցին, ամպիցիլին և էրիթրոմիցին հակաբիոտիկների նկատմամբ,
- *A. eupatoria*, *H. alpestre.*, *R. obtusifolius* և *S. officinalis* բուսատեսակների մեթանոլային լուծամզվածքների ցնդող միացությունների կազմի վերլուծությունը ԳԲ-ՄՍ մեթոդով:

Աշխատանքի ապրոբացիան: Ատենախոսության արդյունքները զեկուցվել են ԵՊՀ Կենսաբանության ֆակուլտետի Կենսաքիմիայի, մանրէաբանության և կենսատեխնոլոգիայի ամբիոնի սեմինարների ընթացքում, ինչպես նաև «FEBS 41st Congress» (Կուսադասի, Թուրքիա, 03-08 սեպտեմբեր, 2016) «ASM Microbe 2017» (Նոր Օռլեան, ԱՄՆ, 01-05 հունիս, 2017) և «FEBS 42nd Congress» (Երուսաղեմ, Իսրայել, 10-14 սեպտեմբեր, 2017) միջազգային գիտաժողովներում:

Հրատարակված աշխատություններ: Ատենախոսության արդյունքները ներկայացված են 6 հրատարակումներում, այդ թվում՝ 3 գիտական հոդվածներում և 3 միջազգային գիտաժողովների թեզիսներում:

Ատենախոսության ծավալը և կառուցվածքը: Աշխատանքը կազմված է ներածությունից, գրական ակնարկից, հետազոտությունների նյութերից և մեթոդներից, հետազոտությունների արդյունքներից ու դրանց քննարկումից, եզրակացություններից և գրականության ցանկից: Աշխատանքը շարադրված է 137 էջի վրա, ներառում է 15 աղյուսակ, 9 նկար, 19 գծապատկեր և 217 գրական հղում:

ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

Գրական ակնարկը կազմված է 6 բաժիններից, որտեղ բնութագրված են հակաբիոտիկ կայունության հիմնախնդիրը, և այդ խնդրի լուծման մեջ բուսական ծագման միացությունների կարևորությունը: Նկարագրված են բուսական ծագման հակամանրէային միացությունների հիմնական խմբերը, դրանց կենսասինթեզի ուղիները, ինչպես նաև հակամանրէային ազդեցության մեխանիզմները:

ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԵՐԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

Հետազոտության օբյեկտները: Հետազոտություններում ուսումնասիրվել են 28 վայրի դեղաբույսեր (Աղ. 1), որոնց ցանկը ընտրվել է համաձայն հայկական ավանդական բժշկության մեջ դրանց դեղաբանական կիրառության: Բույսերի մեծամասնությունը հավաքվել է ՀՀ Տավուշի տարածաշրջանից:

Աղ. 1. Հետազոտված բուսատեսակների ցանկը:

Բույսի անվանում	Օրգան	Բույսի անվանում	Օրգան
<i>Achillea filipendulina</i> Lam.	Վ ^Բ	<i>Origanum vulgare</i> L.	Վ
<i>Achillea nobilissubsp neilreichii</i> (A.Kern.) Takht.	Վ	<i>Stachys sylvatica</i> L.	Վ
<i>Cichorium intybus</i> L.	Վ, Ա	<i>Thymus kotschyanus</i> Boiss. & Hohen.	Վ
<i>Inula helenium</i> L.	Տ, Ծ	<i>Lilium armenum</i> (Miscz. ex Grossh.) Manden. (ERCB 13209)	ՏՑ, ՍԽ
<i>Agrimonia eupatoria</i> L. (ERCB 13207) ^ա	ԱԲ	<i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	Կ, Վ
<i>Alchemilla sericata</i> Rchb. ex Buser	Վ	<i>Peganum harmala</i> L.	Ս, Ա, ՏՑ, Ծ
<i>Alchemilla</i> sp.	Վ	<i>Rumex obtusifolius</i> L. (ERCB 13208)	Տ, Ա, ԾԲ, Ս
<i>Rubus anatolicus</i> Focke	ԾՏ	<i>Sambucus ebulus</i> L.	Տ, ԾԲ, Պ
<i>Sanguisorba officinalis</i> L. (ERCB 13205)	Վ, Ա	<i>Sambucus nigra</i> L.	Տ, ԾԲ, Պ
<i>Chelidonium majus</i> L.	ԱԲ	<i>Tilia caucasica</i> Rupr.	Տ, ԾԲ
<i>Cuscuta europaea</i> L.	ԱԲ	<i>Veratrum album</i> L.	Վ, Ա
<i>Gentiana cruciata</i> L.	Վ, Ա	<i>Verbascum thapsus</i> L.	Տ, ԾԲ, Ա
<i>Hypericum alpestre</i> subsp. polygonifolium (Rupr.) Avet. & Takht. (ERCB 13206)	Վ	<i>Veronica anagallis-aquatica</i> L.	Վ
<i>Leonurus cardiaca</i> L.	Վ	<i>Viscum album</i> L.	ԱԲ

^աՎուշեր նմուշների հերթական համարները, ^{ԲՎ} – վերգետնյա մաս, ^{ԱԲ} – ամբողջական բույս, ^Ա – արմատ, ^Տ – տերև, ^{ԾԲ} – ծաղկաբույլ, ^Ծ – ծաղիկ, ^Ս – սերմ, ^Կ – կոճղարմատ, ^{ՏՑ} – տերև և ցողուն, ^{ՍԽ} – սոխուկ, ^{ԾՏ} – ծաղիկ և տերև:

Բույսերի նույնականացումը կատարվել է ԵՊՀ Կենսաբանության ֆակուլտետի Բուսաբանության և սնկաբանության ամբիոնի մասնագետների հետ համատեղ: Նախնական գնահատման արդյունքում, հետագա հետազոտությունների համար ընտրված բույսերի նմուշները ավանդադրվել են ԵՊՀ հերբարիումում:

Բուսական չոր նյութի լուծահանումը: Բուսական չոր նյութի լուծահանումը կատարվել է մացերացման եղանակով (Rojas et al. 2006), օգտագործելով հինգ տարբեր լուծիչներ՝ թորած ջուր, մեթանոլ (98%), քլորոֆորմ (99%), ացետոն (99.8%) և հեքսան (97%) 10:1 (լուծիչի ծավալ/ բույսի զանգված) հարաբերությամբ:

Բույսերի լուծամզվածքների նմուշների պատրաստումը: Բուսական լուծամզվածքների աշխատանքային լուծույթները պատրաստվել են չոր լուծամզվածքների մաքուր դիմեթիլ սուլֆօքսիդի (ԴՄՍՕ) մեջ լուծման ճանապարհով:

Օգտագործված թեստ-օրգանիզմները և աճեցման պայմանները: Աշխատանքում օգտագործված թեստ-միկրոօրգանիզմներն են. բակտերիաներ՝ *Escherichia coli* VKPM-M17, *Pseudomonas aeruginosa* GRP3, *Bacillus subtilis* WT-A1, *Salmonella typhimurium* MDC 1754, *Staphylococcus aureus* MDC 5233, ամպիցիլին-կայուն *E. coli* dhpa-pUC18, կանամիցին-կայուն *E. coli* PARS-25, *E. coli* C-T4 և նրա T4 ֆագը: Խմորասնկեր՝ *Candida albicans* WT-174 և *Candida guilliermondii* HP-17:

Բակտերիաների աճեցման համար օգտագործվել է Մյուլլեր Հինթոն արգանակ (ազար) սննդամիջավայրը (Liofilchem, Իտալիա): Խմորասնկերի աճեցման համար օգտագործվել է Մյուլլեր Հինթոն արգանակ (ազար) + 2% գլյուկոզ և 0.5 մկգ/մլ մեթիլեն կապույտ (Sheehan et al., 2004):

Բույսերի լուծամզվածքների հակաբակտերիական և հակասնկային ակտիվության գնահատումը: Լուծամզվածքների (նոսրացված մինչև 500 մկգ/մլ) բակտերիաստատիկ ակտիվությունը հետազոտվել է ազարում դիֆուզիայի մեթոդով (Ginovyán et al. 2015): Որպես բացասական ստուգիչ օգտագործվել է 1%-անոց ԴՄՍՕ, իսկ որպես դրական ստուգիչներ՝ գենտամիցին (10 մկգ/մլ)՝ բակտերիաների և նիստատին (20 մկգ/մլ)՝ խմորասնկերի դեպքում:

Բույսերի լուծամզվածքների նվազագույն արգելակիչ/սնկասպան/բակտերիասպան կոնցենտրացիայի որոշումը: Լուծամզվածքների ՆԱԿ որոշումը իրականացվել է արգանակում միկրոնոսրացման մեթոդով (Wiegand et al. 2008): Որպես դրական ստուգիչներ օգտագործվել են գենտամիցին (բակտերիաների դեպքում) և նիստատին (խմորասնկերի դեպքում): 1% ԴՄՍՕ-ն և մաքուր արգանակը օգտագործվել են որպես բացասական ստուգիչներ: ՆԲԿ/ՆՍԿ-ն որոշվել է ՆԱԿ որոշման ժամանակ աճ չցուցաբերած անցքերից կախությամբ (5 մկլ) պինդ սննդամիջավայրի վրա վերացանքի միջոցով (Wiegand et al. 2008):

Բույսերի լուծամզվածքների հակաֆագային ազդեցության որոշումը: Բուսական լուծամզվածքների (նոսրացված մինչև 1 մգ/մլ) հակաֆագային ակտիվությունը որոշվել է կրկնակի ազարային շերտերի մեթոդով (Ginovyán et al. 2015):

Հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվության որոշումը: Հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվությունը ուսումնասիրվել է գենտամիցին, տետրացիկլին, կանամիցին, ամպիցիլին և էրիթրոմիցին հակաբիոտիկների ՆԱԿ որոշման միջոցով,

բուսական լուծամզվածքների ենթաարգելակիչ կոնցենտրացիաների (ՆԱԿ/2, ՆԱԿ/4) առկայության և բացակայության պայմաններում (Fankam et al. 2015):

Ջերմային մշակման ազդեցությունը լուծամզվածքների հակամանրէային ակտիվության վրա: Լուծամզվածքների հակամանրէային ազդեցության համար պատասխանատու միացությունների ջերմակայունությունը որոշվել է Սիմլայի և Ռոյի (2012) կողմից նկարագրված մեթոդով՝ որոշ ձևափոխություններով: Նմուշները պահվել են 60°C, 80°C, 100°C և 121°C ջերմաստիճանային պայմաններում 30 և 60 րոպե տևողությամբ:

Բույսերի լուծամզվածքների որակական և քանակական ֆիտոքիմիական հետազոտություններ: Որակական և քանակական ֆիտոքիմիական հետազոտությունները կատարվել են ընդհանուր մեթոդներով (Harborne, 1998):

Բույսերի լուծամզվածքների նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիա-կենսավտոգրաֆիական հետազոտություններ: Լուծամզվածքների ՆՇՔ բաժանման նպատակով (թիթեղների չափսը 15x15սմ, АPMСOԲՆ ПTCX –АФ-В, սիլիկագել КСКСГ, Ռ-Դ) օգտագործվել են տարբեր լուծիչների համակարգեր, նախատեսված տարբեր խմբերի միացությունների անջատման համար: Լուծամզվածքները (200 մկգ/մլ խտությամբ) կաթեցվել են նախաադսորբցիոն հատվածին 20 մլլ քանակով: Ստացված քրոմատագրի հակամանրէային (*S. aureus* MDC 5233 շտամի նկատմամբ) ակտիվ ֆրակցիաների հայտնաբերման նպատակով օգտագործվել է հպումային կենսաավտոգրման մեթոդը (Choma and Grzelak 2011):

Բույսերի լուծամզվածքների հակառադիկալային ակտիվության գնահատումը: Լուծամզվածքների հակառադիկալային ակտիվության գնահատումը կատարվել է 1,1-դիֆենիլ-2- ալիլրիլիդրազիլ՝ ԴՖՊԸ էթանոլային լուծույթի կիրառմամբ (ազատ ռադիկալային մեթոդ) (Apak et al. 2013): Որպես դրական ստուգիչ օգտագործվել է կատեխինի լուծույթը:

Բույսերի լուծամզվածքների քիմիական կազմի որոշումը ԳՔ-ՄՍ մեթոդով: Մեթանոլային լուծամզվածքներում պարունակվող ցնդող միացությունների կազմի որոշման նպատակով օգտագործվել է գազ քրոմատոգրաֆիայի մեթոդը՝ զուգակցված մաս-սպեկտրոմետրիայի հետ (ԳՔ-ՄՍ) օգտագործելով Hewlett–Packard 5890 Series II գազ քրոմատագիրը (Avetisyan et al. 2017):

Տվյալների վիճակագրական վերլուծությունը: Բոլոր փորձերը կրկնվել են առնվազն երեք անգամ: Ներկայացված են ստացված տվյալների միջին արժեքները՝ ստանդարտ շեղումներով, որոնք հաշվարկվել են GraphPad Prism 5.03 (GraphPad Software, Inc.; Լա-Հոյա, Կալիֆոռնիա, ԱՄՆ) և Microsoft Excel 2010 (Microsoft, Ռեդմոնդ, Վաշինգտոն, ԱՄՆ) ծրագրերի միջոցով: Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման: Մասնավորապես, Սթյուդենթի Թ-թեստի միջոցով փորձերի արդյունքներում ստացված տվյալների հավաստիության գնահատման համար օգտագործվել է R Project for Statistical Computing version R 3.1.0 (The R foundation of statistical computing, Վիեննա, Ավստրիա) ծրագիրը: Աշխատանքում բերված արդյունքները հավաստի են ($p < 0.05$), եթե այլ արժեք հաջորդիվ բերված չէ:

ԳԼՈՒԽ 3. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴԻԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՖԼՈՐԱՅԻ ՈՐՈՇ ԴԵՂԱԲՈՒՅՍԵՐԻ և ԴԻԱՆՑ ՏԱՐՔԵՐ ՕՐԳԱՆՆԵՐԻՑ ՍՏԱՑՎԱԾ ԼՈՒԾԱՄԶՎԱԾՔՆԵՐԻ ՀԱԿԱՄԱՆԲԵԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄԸ

Բարձր հակամանրէային ազդեցությամբ բույսերի ընտրության նպատակով կատարվել է Հայկական ավանդական բժշկության մեջ օգտագործվող 28 վայրի դեղաբույսերի 48 օրգանների (Աղ. 1) նախնական գնահատում *in vitro* պայմաններում հինգ տեսակի բակտերիաների (2 գրամ-դրական և 3 գրամ-բացասական) և երկու տեսակի խմորասնկերի շտամների նկատմամբ: Հետազոտությունների ընթացքում օգտագործվել է բուսական լուծամզվածքների 500 մկգ/մլ կոնցենտրացիան, որը ընտրվել է հաշվի առնելով ոլորտի ուղեցույցները, մասնավորապես այն, որ նախնական հայտնաբերիչ հետազոտությունների ժամանակ պետք է խուսափել 1000 մկգ/մլ-ից բարձր կոնցենտրացիաներից (Ríos and Recio 2005): Բույսերի հակամանրէային ակտիվության առավել արդյունավետ գնահատման նպատակով օգտագործվել են 5 տարբեր լուծիչներով ստացված լուծամզվածքներ:

Առավել բարձր հակաբակտերիական ակտիվություն ցուցաբերել են *S. officinalis* (Դեղաբու աղյուսխամիկ) (վերգետնյա մաս), *R. obtusifolius* (Լայնալերև ավելուկ) (սերմ), *H. alpestre* (Ալպիական սրոհունդ) (վերգետնյա մաս), *L. armenum* (Հայկական շուշան) (սոխուկ) և *A. eupatoria* (Բժշկական երեսնակ) (ամբողջական բույս) լուծամզվածքները, որոնք ընտրվել են հետագա հետազոտությունների համար: Ընտրությունը կատարվել է հիմնվելով բուսական լուծամզվածքների կողմից միկրոօրգանիզմների աճի արգելակման գոտու չափերի և ազդեցության շրջանակի վրա:

Որոշվել է ընտրված հինգ բույսերի առավել ակտիվ օրգանների հինգ տարբեր լուծիչներով ստացված լուծամզվածքների ՆԱԿ արժեքները հինգ բակտերիաների և երկու խմորասնկերի շտամների նկատմամբ (Աղ. 2): ՆԱԿ արժեքները ընդհանուր առմամբ տատանվել են 64 մկգ/մլ –ից 1024 մկգ/մլ միջակայքում:

Առավել ցածր ՆԱԿ արժեքներ դիտվել է բույսերի ացետոնային և մեթանոլային լուծամզվածքների դեպքում: Մի շարք լուծամզվածքներ ունեցել են 128 մկգ և ցածր ՆԱԿ արժեքներ, որը ըստ գրականության տվյալների (Cos et al. 2006) վկայում է բարձր ակտիվության մասին: Բուսական լուծամզվածքները առավել ակտիվ են եղել գրամ-դրական բակտերիաների նկատմամբ: Բացառություն է կազմել *P. aeruginosa*-ն, որը բարձր զգայունություն է ցուցաբերել բոլոր լուծամզվածքների նկատմամբ: Խմորասնկերի աճը ճնշվել է համեմատաբար բարձր կոնցենտրացիաների դեպքում:

R. obtusifolius, *S. officinalis* և *A. eupatoria* ՆԱԿ արժեքների վերաբերյալ գրականության մեջ առկա են նմանատիպ տվյալներ (Kokoska et al. 2002; Copland et al. 2003; Wegiera et al. 2011; Muruzović et al. 2016): Իսկ *L. armenum* և *H. alpestre* բույսերի դեպքում դրանք որոշվել են առաջին անգամ:

Տույց է տրվել նաև մի շարք լուծամզվածքների մանրէասպան ազդեցությունը (Աղ. 2):

Աղ. 2. Բույսերի տարբեր լուծամզվածքների ՆԱԿ/ՆԲԿ/ՆՍԿ արժեքները որոշ միկրոօրգանիզմների նկատմամբ:

		Թեստ օրգանիզմ ^ա / ՆԱԿ(մկգ/մլ) և ՆԲԿ/ՆՍԿ(մկգ/մլ)													
		SA		BS		PA		EC		ST		CG		CA	
Բույսի տեսակ	Լուծիչ	ՆԱԿ	ՆԲԿ	ՆԱԿ	ՆԲԿ	ՆԱԿ	ՆԲԿ	ՆԱԿ	ՆԲԿ	ՆԱԿ	ՆԲԿ	ՆԱԿ	ՆՍԿ	ՆԱԿ	ՆՍԿ
<i>H. alpestre</i> (վերգետնյա մաս)	Ջուր	1024	–	–	–	256	–	–	–	1024	–	–	–	–	–
	Մեթ	256	512	256	512	128	1024	512	–	–	–	–	–	–	–
	Քլոր	128	–	256	1024	256	1024	1024	–	1024	–	1024	–	–	–
	Ացետ	128	–	128	512	64	512	1024	–	512	–	1024	–	1024	–
	Հեքս	128	512	256	512	64	512	1024	–	1024	–	1024	–	–	–
<i>A. eupatoria</i> (ամբողջական բույս)	Ջուր	1024	–	–	–	1024	–	1024	–	1024	–	1024	–	–	–
	Մեթ	256	–	128	–	256	1024	512	–	1024	–	1024	–	–	–
	Քլոր	256	512	256	1024	512	1024	512	–	512	–	256	1024	512	–
	Ացետ	256	–	128	1024	128	512	512	–	512	–	256	–	512	–
	Հեքս	256	1024	256	1024	128	512	–	–	512	–	512	1024	1024	–
<i>L. armenum</i> (սխտակ)	Ջուր	1024	–	1024	–	1024	–	–	–	1024	–	–	–	–	–
	Մեթ	512	–	512	1024	256	512	1024	–	–	–	1024	–	–	–
	Քլոր	512	–	1024	–	128	512	1024	–	512	–	512	1024	1024	–
	Ացետ	512	–	512	–	128	512	512	–	512	–	–	–	–	–
	Հեքս	1024	–	1024	–	256	–	–	–	1024	–	–	–	–	–
<i>R. obtusifolius</i> (սերմ)	Ջուր	512	–	1024	–	256	1024	–	–	1024	–	1024	–	1024	–
	Մեթ	256	–	128	–	128	512	512	–	512	–	512	–	–	–
	Քլոր	1024	–	1024	–	512	–	–	–	1024	–	1024	–	–	–
	Ացետ	256	–	128	–	128	1024	512	–	512	–	512	–	–	–
	Հեքս	512	–	512	–	512	1024	–	–	1024	–	1024	–	1024	–
<i>S. officinalis</i> (վերգետնյա մաս)	Ջուր	–	–	1024	–	512	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Մեթ	256	–	128	512	256	512	512	–	512	–	512	–	512	–
	Քլոր	512	–	512	–	128	256	1024	–	1024	–	512	1024	512	–
	Ացետ	128	–	128	1024	64	256	256	–	256	–	512	–	512	–
	Հեքս	256	–	512	1024	256	512	1024	–	1024	–	256	–	512	–
Գենտամիցին/Նիստատին		0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5	0.5	2	1	>2	2	>4	2	4

^աՕգտագործված թեստ օրգանիզմներ: *Escherichia coli* WKPM-M17 (EC), *Pseudomonas aeruginosa* GRP3 (VKPH B-82-5) (PA), *Bacillus subtilis* WT-A1 (BS), *Salmonella typhimurium* WDCM 1754 (ST), *Staphylococcus aureus* WDCM 5233 (SA), *Candida albicans* 174 (CA), *Candida guilliermondii* HP-17 (CG),
^բ(-) ՆԱԿ արժեքը մեծ է 1024 մկգ/մլ-ից:

Բոլոր հինգ բույսերը ունեցել են բակտերիասպան ազդեցություն *P. aeruginosa* նկատմամբ, ընդ որում, որոշ դեպքերում 250 մկգ/մլ կոնցենտրացիայի դեպքում (*S. officinalis*-ի ացետոնային և քլորոֆորմային լուծամզվածքներ): *B. subtilis*-ի դեպքում մանրէասպան ազդեցություն ցուցաբերել են բույսերից չորսը (բացառությամբ *R. obtusifolius*-ի): *C. guilliermondii* խմորասնկի դեպքում՝ երեքը (*A. eupatoria* *L. armenum* *S. officinalis*), իսկ *S. aureus* բակտերիայի նկատմամբ՝ *H. alpestre* և *A. eupatoria* բույսերը: Հետազոտված բոլոր բուսական լուծամզվածքները ցուցաբերում են միայն ճնշող ազդեցություն *E. coli*, *S. typhimurium* և *C. albicans* նկատմամբ մինչև 1024 մկգ/մլ կոնցենտրացիան:

A. eupatoria-ի մանրէասպան ազդեցության մասին հաղորդվել է նաև մեկ այլ աշխատանքում (Muruzović et al. 2016), ընդ որում հաղորդված տվյալները քիչ են տարբերվում մեր կողմից ստացվածից: Մյուս չորս բույսերի մանրէասպան ազդեցությունը ցույց է տրվել առաջին անգամ:

Բույսերի լուծամզվածքների և կենսաբանորեն ակտիվ միացությունների կիրառության նպատակով կարևորվում է դրանց հակամանրէային ազդեցությունը պայմանավորող միացությունների ջերմակայունության որոշումը (Simlai and Roy 2012):

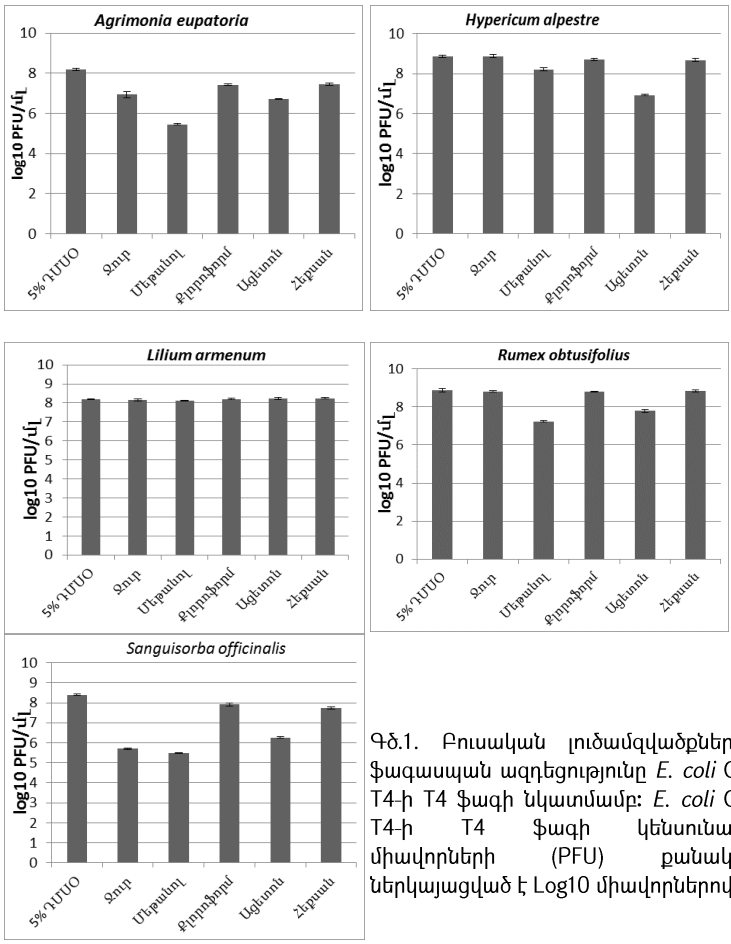
Պարզվել է, որ *H. alpestre*-ի մեթանոլային, և *S. officinalis*-ի մեթանոլային և ացետոնային լուծամզվածքները պահպանում են իրենց հակամանրէային ակտիվությունը *S. aureus*-ի նկատմամբ նույնիսկ 121°C-ում 30 րոպե պահելուց հետո: Հակառակ դրան որոշ լուծամզվածքներ շատ զգայուն են ջերմամշակման նկատմամբ: Մասնավորապես, *A. eupatoria* բույսի մեթանոլային և *H. alpestre* -ի ացետոնային լուծամզվածքները կորցնում են իրենց հակաբակտերիական ակտիվությունը 60°C-ում համապատասխանաբար 30 և 60 րոպե պահելուց հետո: *A. eupatoria*-ի ացետոնային և *R. obtusifolius*-ի մեթանոլային լուծամզվածքների հակամանրէային միացությունների դեպքում դիտվում է միջին ջերմակայունություն:

Հետազոտվող բույսերի լուծամզվածքների հակամանրէային ակտիվությունը պայմանավորող միացությունների ջերմակայունության հետազոտությունները մեր կողմից կատարվել են առաջին անգամ:

Ընտրված բույսերի տարբեր լուծամզվածքների հակավիրուսային ակտիվության ուսումնասիրությամբ պարզվել է, որ բոլոր բույսերը՝ բացառությամբ *L. armenum*-ի ցուցաբերում են արտահայտված ֆազասպան ազդեցություն *E. coli* C-T4-ի T4 ֆագի նկատմամբ՝ 1 մգ/մլ կոնցենտրացիայի դեպքում, երբ դրանք ինկուբացվում են 90 րոպե (Գծ. 1):

Առավել բարձր հակաֆագային ազդեցություն դրսևորում են բույսերի մեթանոլային և ացետոնային լուծամզվածքները: Բացառություն է կազմում *S. officinalis* բույսի ջրային լուծամզվածքը, որը նույնպես ցուցաբերում է արտահայտված ֆազասպան ազդեցություն, հանգեցնելով 2.69 Log₁₀ ֆագային կոնցենտրացիայի նվազեցման: Ամենաբարձր ֆազասպան ազդեցություն դրսևորել է *S. officinalis* մեթանոլային լուծամզվածքը՝ 2.90 Log₁₀ նվազեցում, որին հաջորդել են *A. eupatoria* մեթանոլային լուծամզվածքը՝ 2.72 Log₁₀, *S. officinalis* ջրային և ացետոնային (2.13 Log₁₀) լուծամզվածքները, *H. alpestre* ացետոնային լուծամզվածքը՝ 1.92 Log₁₀ և այլն: *A. eupatoria* և *S. officinalis* բույսերի բարձր

հակավիրուսային ակտիվությունը ցույց է տրվել նաև այլ աշխատանքներում (Kim et al. 2001; Kwon et al. 2005; Al-Snafi 2015): *R. obtusifolius* և *H. alpestre* բույսերի հակավիրուսային ակտիվության վերաբերյալ առաջին անգամ հաղորդվել է մեր կողմից:



Գծ.1. Բուսական լուծամզվածքների ֆագասայան ազդեցությունը *E. coli* C-T4-ի T4 ֆագի նկատմամբ: *E. coli* C-T4-ի T4 ֆագի կենսունակ միավորների (PFU) քանակը ներկայացված է Log10 միավորներով:

ՆԱԿ/ՆՄԿ և հակաֆագային հետազոտությունների արդյունքներով պարզվել է, որ *L. armenum*-ը մյուս 4 բույսերի համեմատ ցուցաբերում է ցածր հակամանրէային ազդեցություն, հետևաբար նպատակահամար չի գտնվել այն օգտագործել հետագա հետազոտությունների համար:

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԼՈՒԾԱՄԶՎԱԾՔՆԵՐԻ ՀԱԿԱՔԻՈՏԻԿ ՄՈՂՈՒԼԱՑՆՈՂ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ

Բույսերի լուծամզվածքների և որոշ հակաբիոտիկների համատեղ ազդեցության (սիներգիզմ) հայտնաբերման նպատակով բուսական լուծամզվածքների հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվությունը հետազոտվել է 5 տարբեր հակաբիոտիկների նկատմամբ օգտագործելով չորս տեսակի բակտերիաներ (մեկ գրամ-դրական և 3 գրամ-բացասական, որոնցից երկուսը՝ կանամիցին-կայուն *E. coli* PARS-25 և ամպիցիլին-կայուն *E. coli* dhpa-pUC18) (Աղ. 3):

Աղ. 3. Բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքների հակաբիոտիկ մոդուլացնող ազդեցությունը:

Հակաբիոտիկ նոտիկ օրգանիզմ	Թեստ առանձին մկգ/մլ	ՆԱԿ	Հակաբիոտիկների ՆԱԿ արժեքները բուսական լուծամզվածքների ենթաարգելակիչ կոնցենտրացիաների հետ միասին, մկգ/մլ							
			<i>A. eupatoria</i>		<i>H. alpestre</i>		<i>R. obtusifolius</i>		<i>S. officinalis</i>	
			ՆԱԿ/2	ՆԱԿ/4	ՆԱԿ/2	ՆԱԿ/4	ՆԱԿ/2	ՆԱԿ/4	ՆԱԿ/2	ՆԱԿ/4
Գենտամին	<i>S. aureus</i>	0.5	0.12(4)	0.25(2)	0.12(4)	0.12(4)	0.12(4)	0.25 (2)	0.12 (4)	0.12(4)
	<i>E. coli</i> M17	0.5	0.25(2)	0.12(4)	0.25(2)	0.5(1)	0.25(2)	0.25(2)	0.12 (4)	0.25(2)
	<i>E. coli</i> KN	0.5	0.25(2)	0.25(2)	0.25(2)	0.25(2)	0.25(2)	0.25(2)	0.5(1)	0.5(1)
	<i>E. coli</i> AMP	0.5	0.12 (4)	0.12(4)	0.25(2)	0.25(2)	0.25(2)	0.25(2)	0.5(1)	0.5(1)
Տետրացիկլին	<i>S. aureus</i>	0.25	0.25(1)	0.25(1)	0.12(2)	0.25(1)	0.12(2)	0.12(2)	0.12(2)	0.12(2)
	<i>E. coli</i> M17	0.5	0.5(1)	0.5(1)	0.25(2)	0.5(1)	0.25(2)	0.25(2)	0.25(2)	0.5(1)
	<i>E. coli</i> KN	8	4(2)	4(2)	4(2)	4(2)	4(2)	4(2)	4(2)	4(2)
	<i>E. coli</i> AMP	1	0.5(2)	0.5(2)	0.5(2)	0.5(2)	0.5(2)	0.5(2)	0.5(2)	0.5(2)
Կանամիցին	<i>S. aureus</i>	16	8(2)	8(2)	4(4)	4(4)	8(2)	8(2)	4(4)	4(4)
	<i>E. coli</i> M17	8	4(2)	4(2)	4(2)	4(1)	2(4)	4(2)	4(2)	4(2)
	<i>E. coli</i> KN	128	64(2)	64(2)	64(2)	64(2)	128(1)	128(1)	128(1)	128(1)
	<i>E. coli</i> AMP	4	2(2)	2(2)	2(2)	2(2)	2(2)	2(2)	2(2)	2(2)
Ամպիցիլին	<i>S. aureus</i>	0.12	0.12(1)	0.12(1)	0.03(4)	0.06(2)	0.12(1)	0.12(1)	0.12(1)	0.12(1)
	<i>E. coli</i> M17	4	4(1)	2(2)	4(1)	2(2)	2 (2)	2(2)	2(2)	2(2)
	<i>E. coli</i> KN	2	2(1)	2(1)	0.5(4)	1(2)	1(2)	1(2)	2(1)	2(1)
	<i>E. coli</i> AMP	256	64(4)	256(1)	256(1)	256(1)	64(4)	64(4)	256(1)	256(1)
Էրիթրոմիցին	<i>S. aureus</i>	0.25	0.25(1)	0.25(1)	0.12(2)	0.25(1)	0.25(1)	0.25(1)	0.12(2)	0.12(2)
	<i>E. coli</i> M17	32	32(1)	32(1)	16(2)	32(1)	16(2)	16(2)	32(1)	32(1)
	<i>E. coli</i> KN	4	1(4)	2(2)	2(2)	2(2)	4(1)	4(1)	4(1)	4(1)
	<i>E. coli</i> AMP	16	8(2)	8(2)	8(2)	8(2)	8(2)	8(2)	16(1)	16(1)

ՆԱԿ/2 (ՆԱԿ/4) – լուծամզվածքի տվյալ բակտերիայի նկատմամբ ՆԱԿ արժեքից երկու (չորս) անգամ նոսր կոնցենտրացիան, **(n)** – մոդուլացնող գործոն:

Մի շարք հակաբիոտիկ-լուծամզվածք համադրումներ նվազեցրել են հակաբիոտիկների ՆԱԿ արժեքները մինչև 4 անգամ, ինչը վկայում է սիներգիկ փոխազդեցության մասին: Ընդ որում հետաքրքրական է, որ մի շարք դեպքերում ՆԱԿ արժեքների համարժեք նվազեցում դիտվում է միևնույն բուսական լուծամզվածքի թե ՆԱԿ/2 և թե ՆԱԿ/4 կոնցենտրացիաների դեպքում, ինչը կարող է վկայել, որ մոդուլացնող ազդեցությունը տվյալ դեպքում ուղղակիորեն կախված չէ կոնցենտրացիայից: Հետազոտվող բույսերի հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվության վերաբերյալ գրականության մեջ տվյալներ չեն հայտնաբերվել:

Այսպիսով, ձեռք բերված տվյալները մատնանշում են հետազոտված բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքների բարձր հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվությունը:

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԼՈՒՇԱՄԶՎԱԾՔՆԵՐԻ ՈՐՈՇ ԵՐԿՐՈՐԴԱՅԻՆ ԱՐԳԱՍԻՔՆԵՐԻ ՈՐԱՎԱԿԱՆ ԵՎ ՔԱՆԱԿԱԿԱՆ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Բույսերի լուծամզվածքներում երկրորդային նյութափոխանակության արգասիքների առկայության գնահատմամբ պարզվել է դրանց լայն սպեկտրով ներկայացվածությունը: Մասնավորապես, բոլոր չորս տեսակի բույսերի լուծամզվածքներում առկա են ընդհանուր ֆենոլային միացություններ, այդ թվում՝ ֆլավոնոիդներ, տանիններ և կոմարիններ, իսկ ալկալոիդները և սրտային գլիկոզիդները բացակայում են: Տերպենոիդները հայտնաբերվել են միայն *R. obtusifolius*-ի լուծամզվածքում, մինչդեռ սապոնինները և ֆլոբատանինները հետազոտված բոլոր բույսերում բացառությամբ *S. officinalis*-ի: Ստերոիդները հայտնաբերվել են *A. eupatoria* և *H. alpestre* բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքներում:

Բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքներում որոշվել է ֆենոլային միացությունների այդ թվում ֆլավոնոիդների և տանինների քանակական պարունակությունը: Պարզվել է, որ առավել մեծ քանակությամբ ընդհանուր ֆենոլային միացություններ առկա են *A. eupatoria*-ի լուծամզվածքում (358.9 մկգ Գ/Թէ/մգ) (Աղ. 4): Իսկ ֆլավոնոիդների և տանինների ամենաբարձր պարունակությունը դիտվել է *H. alpestre*-ի մեթանոլային լուծամզվածքում համապատասխանաբար 78.08 մկգ Կէ/մգ և 27.78 մկգ Կէ/մգ:

Աղ. 4. Բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքներում որոշ երկրորդային արգասիքների քանակական պարունակությունը:

Բուսատեսակներ	Ֆենոլային		
	միացություններ, մկգ Գ/Թէ/մգ	Ֆլավոնոիդներ, մկգ Կէ/մգ	Տանիններ, մկգ Կէ/մգ
<i>A. eupatoria</i>	358.9±0.62	26,23 ± 0.85	21.54±1.02
<i>H. alpestre</i>	263.3±0.61	78.08 ± 1.17	27.78±1.03
<i>R. obtusifolius</i>	327.2±0.33	47.37 ± 1.23	23.93±0.26
<i>S. officinalis</i>	92.6±0.4	34.73 ± 0.93	1.99±0.86

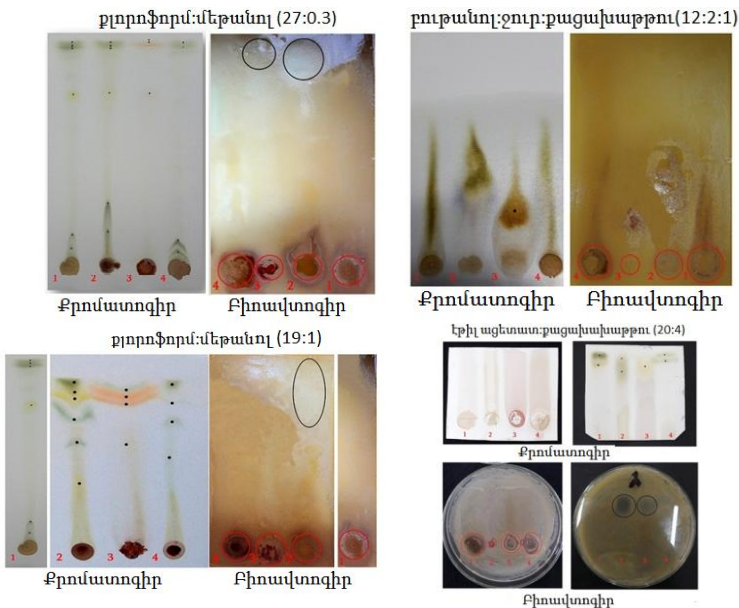
A. eupatoria և *S. officinalis* լուծամզվածքներում ֆենոլային միացությունների պարունակության վերաբերյալ գրականության մեջ նույնպես հայտնաբերվել են նմանատիպ քանակական տվյալներ (Muruzović et al. 2016; Gawron-Gzella et al. 2016): Իսկ մյուս երկու բույսերի դեպքում մեր կողմից հաղորդվել է առաջին անգամ:

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԼՈՒՇԱՄԶՎԱԾՔՆԵՐԻ ՀԱՎԱՄԱՆԻՐԱՅԻՆ ՄԻԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԲՆՈՒՅԹԸ

ՆՇԲ-կենսավտոգրաֆիական մեթոդները լայնորեն օգտագործվում են բուսական լուծամզվածքների հակամանրէային ազդեցության գնահատման նպատակով: Դրանք հնարավորություն են տալիս քրոմատագրի վրա տեղայնացնել

հակամանրէային ազդեցությամբ միացությունները, ինչպես նաև պարզել ակտիվ միացությունների քիմիական բնույթը (Cos et al. 2006; Dewanjee et al. 2015):

ՆՇՔ մեթոդով ակտիվ բուսական ֆրակցիաների անջատման համար օգտագործվել են տարբեր լուծիչների համակարգեր, որոնք նախատեսված են ֆենոլային միացությունների, ֆլավոնոիդների, սապոնինների և տանինների անջատման համար: Քլորոֆորմ:մեթանոլ (27:0.3) լուծիչների համակարգի կիրառմամբ ստացված քրոմատոգրաֆի հայտածումը հաստատել է ֆենոլային միացությունների առկայությունը բոլոր բույսերում: Հետագա կենսավտոգրումը ցույց է տվել, որ *H. alpestre* բույսի մեթանոլային լուծամզվածքից անջատված 6 ֆրակցիաներից ծայրային 3-ը ցուցաբերում են արգելակիչ ազդեցություն *S. aureus*-ի նկատմամբ (Նկ. 1): *R. obtusifolius* բույսից անջատված ֆրակցիաները դրսևորել են ավելի թույլ արտահայտված հակաբակտերիական ազդեցություն:



Նկ. 1. Բույսերի լուծամզվածքների տարբեր լուծիչների համակարգերի կիրառմամբ ստացված քրոմատոգրիները և դրանց հակաբակտերիական ազդեցության ուսումնասիրման բիոավտոգրիները *S. aureus* նկատմամբ: 1- *A. eupatoria*, 2- *H. alpestre*, 3- *R. obtusifolius*, 4- *S. officinalis*

Քլորոֆորմ:մեթանոլ (19:1) լուծիչների համակարգի կիրառմամբ ստացված քրոմատոգրաֆի հայտածումը հաստատել է ֆլավոնոիդների առկայությունը բոլոր բույսերում: Հետագա կենսավտոգրման արդյունքում հակամանրէային ակտիվություն հայտնաբերվել է միայն *H. alpestre* բույսի մեթանոլային լուծամզվածքից անջատված 6 ֆրակցիաներից ծայրային 5-ում (R_f արժեքները՝ 0.733, 0.833, 0.867, 0.9, 0.93) (Նկ. 1):

Սապոնինների անջատման համար օգտագործվել է բուբանոլ:ջուր:քացախաթթու (12:2:1) լուծիչների համակարգը: Ստացված քրոմատագրի վրա հստակ դիտվել է ֆրակցիաների բաժանում, որոնց հայտաձևմամբ հաստատվել է սապոնինների առկայությունը բոլոր բույսերում: Ֆրակցիաներից և ոչ մեկը սակայն օժտված չի եղել հակաբակտերիական ակտիվությամբ (Նկ. 1):

Տանինների ՆՇՔ մեթոդով անջատման ժամանակ *H. alpestre* բույսից անջատվել են երկու ֆրակցիաներ (R_f արժեքները՝ 0.77 և 0.84), որոնք ցուցաբերել են արտահայտված հակաբակտերիական ազդեցություն *S. aureus*-ի նկատմամբ (Նկ. 1): *A. eupatoria* բույսի դեպքում ևս անջատվել են երկու ֆրակցիաներ, որոնք սակայն չեն ցուցաբերել հակամանրէային ազդեցություն (Նկ. 1): Հետաքրքրական է, որ լուծամզվածքի կաթեցման հատվածում դիտվել է բակտերիաների աճի արգելակման հստակ գոտի, ինչը վկայում է, որ նշված բույսի հակաբակտերիական ազդեցության համար պատասխանատու միացությունները չեն առանձնացել տվյալ լուծիչների համակարգում: *R. obtusifolius* բույսի դեպքում անջատվել է մեկ ֆրակցիա, որը ցուցաբերել է որոշակի հակաբակտերիական ակտիվություն (Նկ. 1):

Հետազոտվող բույսերի ՆՇՔ-կենսավտոգրաֆիական հետազոտությունները մեր կողմից կատարվել են առաջին անգամ:

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԼՈՒԾԱՄՉՎԱԾՔՆԵՐԻ ՀԱՎԱՌԱԴԻԿԱԼԱՅԻՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԳՆԱՀԱՏՈՒՄԸ

Ըստ ձեռք բերված տվյալների, հետազոտվող բոլոր բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքներն օժտված են բարձր հակառադիկալային ակտիվությամբ (Աղ. 5): Առավել ցածր կիսարգելակման (IC_{50}) արժեքներ ունեցել են *R. obtusifolius* և *A. eupatoria* բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքները՝ համապատասխանաբար 25.29 և 40.74 մկգ/մլ (ԴՖՊՀ-ի 50 մկգ/մլ կոնցենտրացիայի առկայության պայմաններում):

Աղ. 5. Բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքների հակառադիկալային ակտիվության գնահատումը ազատ ռադիկալային մեթոդով:

Բուսատեսակ	ԴՖՊՀ %-ային արգելակումը լուծամզվածքի 100 մկգ/մլ կոնցենտրացիայի դեպքում	IC_{50} արժեքը (մկգ/մլ)
<i>A. eupatoria</i>	94.53±1.3	40.74±1
<i>H. alpestre</i>	81.75±1.1	50.8±1.6
<i>R. obtusifolius</i>	91.97±0.9	25.29±0.8
<i>S. officinalis</i>	86.86±2.1	54.94±1.2

S. officinalis, *A. eupatoria* և *R. obtusifolius* բույսերի լուծամզվածքների բարձր հակառադիկալային ակտիվությամբ օժտված լինելու մասին հաղորդվել է նաև այլ աշխատանքներում (Harshaw et al. 2010; Kubínová et al. 2012; Paudel et al. 2014; Muruzović et al. 2016), ընդ որում մի շարք դեպքերում IC_{50} արժեքները մոտ են մեր կողմից ստացված տվյալներին: *H. alpestre* հակառադիկալային ակտիվության

ուսումնասիրության վերաբերյալ գրական տվյալներ չեն հայտնաբերվել, չնայած ցույց է տրվել ցեղի այլ ներկայացուցիչների բարձր ակտիվությունը:

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԼՈՒՑԱՄՉՎԱԾՔՆԵՐՈՒՄ ՊԱՐՈՒՆԱԿՎՈՂ ԱԿՏԻՎ ՄԻԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՆՈՒՅՆԱԿԱՆԱՑՈՒՄԸ

A. *eupatoria* բույսի մեթանոլային լուծամզվածքում անջատվել են 27 միացություններ, որոնցից նույնականացվել են 12-ը: Ստացված տվյալների համաձայն մեթանոլային լուծամզվածքի հակամանրէային և հակառադիկալային ակտիվությունը կարող է պայմանավորված լինել դրա կազմում պարունակվող պալմիտաթթու և օկտադեկանաթթու ճարպաթթուներով, տերպենոիդներ՝ սքոալենոլ և իսոստեվիոլով: Նշված միացությունները բույսի լուծամզվածքում ներկայացված են մեծ քանակով և կան մի շարք հիշատակումներ դրանց հակամանրէային և հակառադիկալային ակտիվության վերաբերյալ (Yff et al. 2002; Ezhilan and Neelamegam 2012; Sermakkani and Thangapandian 2012):

H. *alpestre* բույսի մեթանոլային լուծամզվածքում անջատվել են 56 միացություններ, որոնցից նույնականացվել են 24-ը: Պարզվել է, որ այդ բույսի լուծամզվածքների հակամանրէային ակտիվության դսևորման մեջ կարևոր դեր կարող են ունենալ ֆենոլային միացություններից գվայակոլը, կատեխոլը, և վանիլաթթուն, որոշ ճարպաթթուներ (տերտրադեկանաթթու, պալմիտաթթու, լինոլենաթթու, օկտադեկանաթթու), որոշ տերպենոիդներ (ֆիտոլ, տրանս-ֆարնեզոլ), ֆուրֆուրալ և 2,3-դիհիդրո-3,5-դիհիդրօքսի-6-մեթիլ-4H-պիրան-4-ոն միացությունները, որոնք ներկայացված են մեծ քանակով, ինչպես նաև գրականության մեջ նկարագրված է դրանց հակամանրէային ակտիվության վերաբերյալ (Ruberto and Baratta 2000; Silva et al. 2005; Justino et al. 2006; Kocaçalışkan et al. 2006; Vaquero et al. 2007; McGaw et al. 2008; Meenakshi et al. 2012; Pillai and Ramaswamy 2012; Sermakkani and Thangapandian 2012; Sutar et al. 2012; Yu et al. 2013; Barbieri et al. 2017): Բույսի լուծամզվածքի հակառադիկալային ակտիվությունը կարող է պայմանավորված լինել կատեխոլ, գվայակոլ, վանիլաթթու ֆենոլային միացություններով և 2,3-դիհիդրո-3,5-դիհիդրօքսի-6-մեթիլ-4H-պիրան-4-ոն միացությունով, որոնք օժտված են հակառադիկալային ակտիվությամբ (Ruberto and Baratta 2000; Justino et al. 2006; Vaquero et al. 2007; Kumar et al. 2010; Pillai and Ramaswamy 2012; Yu et al. 2013):

R. *obtusifolius* բույսի լուծամզվածքում անջատված 32 միացություններից նույնականացվել են 21-ը: Դրանցից հակամանրէային ազդեցությամբ օժտված են պալմիտաթթու, օլեաթթու, մեթիլ լինոլեատ և ցիս-վակսենաթթու ճարպաթթուները, 1,2,4-բենզենտրիոլ ֆենոլային միացությունը և n-[4-բրոմո-n-բութիլ]-2-պիպերինոն ալկալոիդը (Yff et al. 2002; Kumar et al. 2010; Meenakshi et al. 2012; Sermakkani and Thangapandian 2012): Հակառադիկալային ակտիվությամբ օժտված միացություններն են պալմիտաթթուն և հեքսադեկանաթթվի էթիլ էսթերը (Yff et al. 2002; Kumar et al. 2010; Sermakkani and Thangapandian 2012) :

S. *officinalis* մեթանոլային լուծամզվածքից անջատված 61 միացություններից նույնականացվել են 18-ը, որոնցից հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված են պալմիտաթթու, լինոլենաթթու, ցիս-վակսենաթթուն և օկտադեկանաթթու:

ճարպաթթուները, n-[4-բրոմո-n-բուֆիլ]-2-պիպերդինոն ակլալոիդը, եռտերպենոիդներից՝ սքուալենը, ինչպես նաև ֆուրֆուրոլ և 5-(հիդրօքսիմետիլ)ֆուրֆուրոլ միացությունները (McGaw et al. 2008; Oskoueian et al. 2011; Sermakkani and Thangapandian 2012; Sutar et al. 2012): *S. officinalis* լուծամզվածքի հակառադիկալային ակտիվությամբ օժտված հիմնական միացությունը՝ պալմիտաթթուն է, որի ակտիվության մասին հաղորդվել է տարբեր աշխատանքներում (Yff et al. 2002; Sermakkani and Thangapandian 2012):

H. alpestre բույսի մեթանոլային լուծամզվածքից ՆՇՔ եղանակով էթիլացետատ:քացախաթթու (20:4) լուծիչների համակարգի կիրառմամբ անջատված ակտիվ ֆրակցիայից անջատվել են 38 միացություններ, որոնցից նույնականացվել են 14-ը: Դրանցից 4-ը (պալմիտաթթու և լինոլենաթթու ճարպաթթուները, n-[4-բրոմո-n-բուֆիլ]-2-պիպերդինոն ակլալոիդը և գերանիլլինալոլ տերպենոիդը (Thiesen et al. 2017)) օժտված են հակամանրէային ակտիվությամբ, որոնք էլ ամենայն հավանականությամբ պայմանավորում են նշված ֆրակցիայի բարձր հակաբակտերիական ակտիվությունը:

Այսպիսով հետազոտությունների արդյունքները հնարավորություն են տվել նույնականացնել բույսերի մեթանոլային լուծամզվածքներում պարունակվող հակամանրէային և հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ օժտված մի շարք միացություններ: Սակայն հարկ է նշել, որ բոլոր բույսերի դեպքում մի շարք միացություններ չեն նույնականացվել, որոնք նույնպես, կարող են օժտված լինել կենսաբանական ակտիվությամբ:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Հայաստանի ֆլորայի 28 տեսակի վայրի դեղաբույսերի 48 օրգանների տարբեր լուծամզվածքների հակամանրէային ազդեցության գնահատման արդյունքում պարզվել է *Agrimonia eupatoria* L., *Hypericum alpestre* subsp. *polygonifolium* (Rupr.) Avet. & Takht., *Rumex obtusifolius* L. և *Sanguisorba officinalis* L. բուսատեսակների առավել բարձր հակամանրէային ակտիվությունը:
2. *A. eupatoria*, *H. alpestre*, *R. obtusifolius* և *S. officinalis* բույսերի լուծամզվածքները (1 մգ/մլ) ցուցաբերում են արտահայտված վիրուսասպան ազդեցություն նվազեցնելով *E. coli* C-T4-ի T4 ֆագի կոնցենտրացիան համապատասխանաբար 2.72 Log₁₀, 1.92 Log₁₀, 1.638 Log₁₀, և 2.90 Log₁₀ արժեքներով:
3. Հակամանրէային ազդեցության բնույթի ուսումնասիրմամբ պարզվել է ընտրված բույսերի որոշ լուծամզվածքների մանրէասպան ազդեցությունը *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* բակտերիաների և *C. guilliermondii* խմորասնկի նկատմամբ:
4. *S. officinalis* և *H. alpestre* բույսերի լուծամզվածքներում պարունակվող հակամանրէային միացություններն ունեն բարձր ջերմակայունություն (>121°C), իսկ *R. obtusifolius* և *A. eupatoria* բույսերի լուծամզվածքներում պարունակվում են համապատասխանաբար միջին ջերմակայունության (100°C) և ջերմազգայուն (<80°C) հակամանրէային միացություններ:
5. *A. eupatoria*, *H. alpestre*, *R. obtusifolius* և *S. officinalis* բույսերի լուծամզվածքները օժտված են բարձր հակառադիկալային ակտիվությամբ,

որոնց կիսաարգելակման արժեքները (IC_{50}) կազմում են համապատասխանաբար 40.74, 50.8, 25.29, 54.94 մկգ/մլ (50 մկգ/մլ ԴՖՊՀ առկայության պայմաններում):

6. Ընտրված չորս բույսերի լուծանավածքները ցուցաբերում են բարձր հակաբիոտիկ մոդուլացնող ակտիվություն՝ նվազեցնելով գետնամիցին, տետրացիկլին, կանամիցին, ամպիցիլին և էրիթրոմիցին հակաբիոտիկների ՆԱԿ արժեքները 2-4 անգամ:
7. Բույսերի մեթանոլային լուծանավածքների գումարային հակամանրէային և հակառադիկալային ակտիվությունների դսևորման մեջ կարևոր դեր ունեն *H. alpestre* դեպքում՝ ֆենոլային միացությունները (գվայակոլ, կատեխոլ, վանիլաթթու), որոշ ճարպաթթուներ (տետրադեկանաթթու, պալմիտաթթու, լինոլենաթթու, օկտադեկանաթթու), տերպենոիդները (ֆիտոլ, տրանս-ֆարնեզոլ), ֆուրֆուրոլ և 2,3-դիհիդրո-3,5-դիհիդրօքսի-6-մեթիլ-4H-պիրան-4-ոն միացությունները, *A. eupatoria* դեպքում՝ որոշ ճարպաթթուներ (պալմիտաթթու և օկտադեկանաթթու), տերպենոիդներ՝ սկվալենը և իզոստեվիոլը, *R. obtusifolius* դեպքում՝ որոշ ճարպաթթուներ (պալմիտաթթու, օլեաթթու, մեթիլ լինոլենատ), 1,2,4-բենզենտրիոլ ֆենոլային միացությունը և n-[4-բրոմ-n-բուֆիլ]-2-պիպերիդինոն ակալոիդը, *S. officinalis* դեպքում՝ պալմիտաթթու, լինոլենաթթու ճարպաթթուները, ֆուրֆուրոլ և 5-(հիդրօքսիմեթիլ)ֆուրֆուրոլ միացությունները:

ԱՏԵՆԱՆՈՍՈՒԹՅԱՆ ԹԵՄԱՅՈՎ ՀՐԱՏԱՐԱԿՎԱԾ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ՑԱՆԿ

1. **Ginovyann M.**, Petrosyan M., Trchounian A. Antimicrobial activity of some plant materials used in Armenian traditional medicine. BMC Complement. Altern. Med., 2017, 17, 1–9.
2. **Ginovyann M.**, Trchounian A. Screening of some plant materials used in Armenian traditional medicine for their antimicrobial activity. Proceedings of the Yerevan State University, Chemistry and Biology, 2017, 51(1), 44–53.
3. **Ginovyann M.** Effect of heat treatment on antimicrobial activity of crude extracts of some Armenian herbs. Proceedings of the Yerevan State University, Chemistry and Biology, 2017, 51 (2), 113-117.
4. **Ginovyann M.**, Petrosyan M., Trchounian A. Antimicrobial activity of some plant materials used in Armenian folk medicine. *The FEBS Journal* 283 (Suppl. 1), 2016, 324.
5. **Ginovyann M.**, Petrosyan M., Trchounian A. Antibiotic modulatory effect of the methanolic extracts from Armenian herbs against several gram-negative and gram-positive bacteria. *The FEBS Journal* 284 (Suppl. 1), 2017, 326.
6. **Ginovyann M.**, Petrosyan M., Trchounian A. Antibacterial, Antifungal and Anti-Phage Activity of Different Crude Extracts of Armenian Herbs. ASM Microbe 2017, 2017 June 1-5; New Orleans, Louisiana, USA, Abstracts, 7108.

Biochemical characteristics of some herbs from Armenian flora

SUMMARY

Key words: Armenian herbs, antimicrobial activity, plant extract, antibiotic modulatory activity, plant secondary metabolites, antiradical activity, antiviral activity

The prevalence of microbial infectious diseases caused by antibiotic resistant microorganisms is continuously increasing throughout the world. Antibiotic resistance has become one of the major challenges of humanity since late 20th century. The need for new antimicrobials, which could effectively fight against drug resistant microbes, has tremendously increased. Nowadays, plant materials are considered as one of the most promising sources for discovery of new antimicrobials.

Despite relatively small area, Armenia has large diversity of flora, which is not properly explored for their antimicrobial activity. On the other hand, Armenia has been well-known for its herbal medicine since ancient times. Consequently, it is important to investigate Armenian flora for discovery of new antimicrobial compounds. This served as a basis for planning and implementation of the work.

The aim of the research was to select plants from Armenian flora possessing high antimicrobial activity based on initial screening and investigate their biochemical characteristics.

In scope of the work antimicrobial activity of 48 plant materials of 28 wild herbs from Armenian flora extracted with five different solvents (water, methanol, chloroform, acetone, hexane) were tested against five bacterial (two gram-positive and three gram-negative) and two yeast strains. Based on the obtained data, four plant species possessing high antimicrobial activity were selected: *Agrimonia eupatoria* L. (whole plant), *Hypericum alpestre* subsp. *polygonifolium* (Rupr.) Avet. & Takht. (aerial part), *Rumex obtusifolius* L. (seed) and *Sanguisorba officinalis* L. (aerial part).

MIC/MBC/MFC values of selected plant materials extracted with five solvents were determined against some microorganisms. MIC values of many extracts were 128 µg/ml or below, which is quite low and could be very interesting. Bactericidal and fungicidal activity of some extracts against *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* and *C. guilliermondii* was shown. Moreover, MBC values of *S. officinalis* (acetone and chloroform extracts) against *P. aeruginosa* were 256 µg/ml, which is significantly low.

The extracts of *A. eupatoria*, *H. alpestre*, *R. obtusifolius* and *S. officinalis* at 1 mg/ml concentration expressed high virucidal activity. They reduced the concentration of T4 phage of *E. coli* C-T4 by 2.72 Log₁₀, 1.92 Log₁₀, 1.638 Log₁₀, and 2.90 Log₁₀ values respectively.

According to obtained data, antimicrobial compounds of acetone and methanol extracts of *S. officinalis* and *H. alpestre* had high thermostability (>121⁰C), whereas extracts of *R. obtusifolius* contained antimicrobial compounds with moderate thermostability (100⁰C). In contrast, antimicrobial compounds of *A. eupatoria*'s extract are thermolabile (<80⁰C).

It was shown first time, that methanol extracts of selected plant materials had high antibiotic modulatory activity at sub-inhibitory concentrations (MIC/2 and MIC/4). They decreased MIC values of gentamicin, tetracycline, kanamycin, ampicillin and erythromycin by 2-4 times against ampicillin-resistant *E. coli* dhpa-pUC18, kanamycin-resistant *E. coli* PARS-25, *E. coli* VKPM-M17, and *S. aureus* WDCM 5233 strains.

According to obtained data, methanol extracts of *A. eupatoria*, *H. alpestre*, *R. obtusifolius* and *S. officinalis* possessed high antiradical activity. Their sub-inhibitory values (IC₅₀) were 40.74, 50.8, 25.29, and 54.94 µg/ml respectively (at the presence of 50 µg/ml DPPH).

Qualitative and quantitative phytochemical analysis of the selected plants' methanol extracts revealed presence of wide spectrum of secondary metabolites. It was shown, that highest amount of total phenolic compounds is present in *A. eupatoria*'s extract (358.9 µg GAE/mg). The highest content of flavonoids and tannins has been observed in *H. alpestre*'s extract (78.08 µg QE/mg and 27.78 µg QE/mg respectively).

TLC-bioautographic studies allowed to separate several active antimicrobial fractions from plant extracts and describe the chemical nature of the compounds contained therein.

In the extracts of selected plant materials, various biologically active compounds were identified by GC-MS technique, which could play important role in total antimicrobial and antiradical activity.

Thus, during the research work, high antibacterial, antifungal, antiviral, antibiotic modulatory and antiradical activity of extracts of some herbs from Armenian flora was shown. Obtained data can have practical importance in the fields of medicine and food industry.

ГИНОВЯН МИКАЕЛ МАРТИКОВИЧ

Биохимические особенности некоторых лекарственных растений Армянский флоры

РЕЗЮМЕ

Ключевые слова: лекарственные растения Армении, антимикробная активность, растительный экстракт, антибиотик модулирующая активность, вторичные метаболиты растений, антирадикальная активность, противовирусная активность

Распространенность микробных инфекционных заболеваний, вызванных устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами, постоянно растет во всем мире. С конца 20-го века устойчивость к антибиотикам стала одной из главных проблем человечества. Потребность в новых противомикробных препаратах, которые могут эффективно бороться с лекарственно-устойчивыми микробами, значительно увеличилась. В настоящее время растительные материалы считаются одним из наиболее перспективных источников новых противомикробных соединений.

Несмотря на относительно небольшую площадь, Республика Армения имеет большое разнообразие флоры, которая не изучена должным образом для обнаружения их противомикробной активности. С другой стороны, Армения с древних времен известна своей традиционной медициной. Следовательно, важно исследовать армянскую флору для обнаружения новых противомикробных соединений. Это послужило основой для планирования и осуществления работы.

Целью исследования было, основываясь на первоначальном скрининге, выбрать растения из армянской флоры, обладающие высокой антимикробной активностью, и исследовать их биохимические характеристики.

В рамках работы было проведено исследование антимикробной активности 48 растительных материалов из 28 диких растений Армянской флоры, которые были экстрагированы пятью различными растворителями (вода, метанол, хлороформ, ацетон, гексан). Экстракты были протестированы против пяти видов бактерии (два грамположительных и три грамотрицательных) и двух видов дрожжей. На основании

полученных данных были выбраны четыре растения, обладающие высокой антимикробной активностью: *Agrimonia eupatoria* L. (цельное растение), *Hypericum alpestre* subsp. *polygonifolium* (Rupr.) Avet. & Takht. (надземная часть), *Rumex obtusifolius* L. (семя) and *Sanguisorba officinalis* L. (надземная часть).

Значения МИК/МБК/МФК выбранных растительных материалов, экстрагированных пятью растворителями, были определены для некоторых микроорганизмов. Значения МИК многих экстрактов составляли 128 мкг/мл или ниже, что довольно низко и может быть очень интересным. Показана бактерицидная и фунгицидная активность некоторых экстрактов против *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* и *C. guilliermondii*. Более того, значения МБК *S. officinalis* (ацетоновые и хлороформные экстракты) против *P. aeruginosa* составляли 256 мкг/мл, что значительно низко.

Экстракты *A. eupatoria*, *H. alpestre*, *R. obtusifolius* и *S. officinalis* при концентрации 1 мг/мл выражали высокую вирулицидную активность. Они уменьшали концентрацию Т4-фага *E. coli* C-T4 на 2,72 log₁₀, 1,92 log₁₀, 1,638 log₁₀ и 2,90 log₁₀ значения соответственно.

Согласно полученным данным, антимикробные соединения ацетонных и метаноловых экстрактов *S. officinalis* и *H. alpestre* имели высокую термостабильность (>121°C), тогда как экстракты *R. obtusifolius* содержали антимикробные соединения с умеренной термостабильностью (100°C). Напротив, антимикробные соединения экстракта *A. eupatoria* являются термолабильными (<80°C).

Впервые было показано, что метанольные экстракты отобранных растительных материалов обладают высокой антибиотик-модулирующей активностью в субингибирующих концентрациях (МИК/2 и МИК/4). Они понижали значения МИК гентамицина, тетрациклина, канамицина, ампициллина и эритромицина в 2-4 раза против ампициллин-устойчивой *E. coli* dhpa-pUC18, канамицин-устойчивой *E. coli* PARS-25, *E. coli* VKPM-M17 и *S. aureus* WDCM 5233.

Согласно полученным данным, метанольные экстракты *A. eupatoria*, *H. alpestre*, *R. obtusifolius* и *S. officinalis* обладали высокой антирадикальной активностью. Их субингибирующие значения (IC₅₀) составляли 40.74, 50.8, 25.29 и 54.94 мкг/мл соответственно (в присутствии 50 мкг/мл DPPH).

Качественный и количественный фитохимический анализ метанольных экстрактов выбранных растений выявил наличие широкого спектра вторичных метаболитов. Было показано, что наибольшее количество фенольных соединений присутствуют в экстракте *A. eupatoria* (358,9 мкг ГКЭ/ мг). Наибольшее содержание флавоноидов и танинов наблюдалось в экстракте *H. alpestre* (78,08 мкг КЭ/ мг и 27,78 мкг КЭ/ мг соответственно).

ТСХ-биоавтографические исследования позволили отделить несколько активных антимикробных фракций от растительных экстрактов и описать химическую природу содержащихся в них соединений.

Различные биологически активные соединения были идентифицированы в экстрактах отобранных растений по методу ГХ-МС, которые могут играть важную роль в общей противомикробной и антирадикальной активности растений.

Таким образом, в ходе исследований была показана высокая антибактериальная, противогрибковая, противовирусная, антибиотик-модулирующая и антирадикальная активность экстрактов некоторых растений из Армянской флоры. Полученные данные могут иметь практическое значение в области медицины и пищевой промышленности.