

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ (АР) И АНТИМИКРОБНЫХ (АМ) СВОЙСТВ МЕДА РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ АЗЕРБАЙДЖАНА

Чырагова С. Р., Абдуллаева Ф.Г., Ганбаров Х.Г., Абдуллаев Х.Д.

Бакинский государственный университет

ул. Захида Халилова, 23, г. Баку, 1148, Азербайджан

e-mail: chyragova71@mail.ru

Аннотация. В представленной работе впервые дан анализ антирадикальной (АР) и антимикробной (АМ) активности меда, собранного из различных районов Азербайджана. Исследования проводили с использованием метода, основанного на тушении стабильного свободного радикала DPPH (2/2 дифенил-1-пикрилгидрозил, C₁₈H₁₂N₅O₆). Анализ IC₅₀ для образца меда по отношению IC₅₀ стандартного тушителя тролокса (аналога витамина Е) показал, что образцы меда по эффективности АР, располагаются в следующей последовательности: Закатала (горный) > Белокан (лесной) > Исмаиллы > Белокан (горный) > Закатала (низменный) > Гедабек > Самух > Ленкорань.

Наибольшей АМ активностью против *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* обладает мёд, производимый в горных районах. Предполагается, что наблюдаемая высокая АР и АМ активности высокогорных образцов меда, связаны с растительностью, способствующей накоплению в продуктах меда – бактерицидных, а также фенольных соединений и флавоноидов.

Ключевые слова: мёд, метод DPPH, антирадикальная активность (АР), антимикробная активность (АМ), патогенные бактерии.

INVESTIGATION OF ANTIRADICAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HONEY FROM DIFFERENT REGIONS OF AZERBAIJAN

Chyragova S.R., Abdullayeva F.G., Ganbarov Kh.G., Abdullayev Kh.D.

Baku State University

Zahid Khalilov str., 23, Baku, 1148, Azerbaijan

e-mail: chyragova71@mail.ru

Abstract. In the present study for the first time we showed antiradical activity (AR) and antibacterial (AB) activity analyses of the honey from different regions of the Azerbaijan Republic. Research was carried out by usage stable free radical DPPH (2/2 diphenil-1-picrilhydrosyl, C₁₈H₁₂N₅O₆) assay. The comparative analyses of honey samples and standard TROLOX (analogue of E vitamin) showed that honey samples demonstrate their AR activity in the following order: Zagatala (mountain) > Balakan (forest) > Ismailli > Balakan (mountain) > Zagatala (plain) > Gadabey > Samukh > Lankaran. The highest AM activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were detected for honey from mountain regions.

The close correlation of the specifics of the region vegetation with AR and AB activities were found out. It's believed that vegetation of the high mountain area caused the accumulation of flavonoids, bactericidal and phenolic compounds in the honey.

Key words: honey, DPPH assay, antiradical (AR), antibacterial activity (AB), pathogenic bacteria.

Мед - уже в глубокой древности был признан прекрасным продуктом питания, подаренный нам природой. Человек использует его на протяжении тысячелетий для питания и в лечебных целях. Гиппократ советовал употреблять его для поддержания здоровья, египтяне и многие другие народы залечивали медом раны, использовали, как целебную мазь при заболеваниях глаз.

Мед обладает великолепными антибактериальными [1], противовоспалительными [2], бактерицидными [3] свойствами.

Пищевые и лечебные свойства мёда обусловлены биологической природой, ботаническим окружением производителей – пчёл и, как следствие, его химическим составом. Мёд – это насыщенный различными сахарами, такими как глюкоза, фруктоза, сахароза и некоторыми другими соединениями раствор [4, 5].

Известно, что мед и медопродукты содержат в составе вторичных продуктов – композицию фенольных соединений и флавоноидов, которые действуют, как природные антиоксиданты, эффективны в снижении риска сердечно-сосудистых заболеваний, рака, катаракты, снижении иммунитета, различных воспалительных процессов и т.д. [6]. Анализ состава меда, в том числе на предмет содержания в них этих веществ - в целом известных, как тушители свободно - радикальных состояний и антиокислители (АР и АО соответственно) широко проводятся в различных лабораториях мира [7]. Однако в Азербайджане таких исследований местных разновидностей меда не проводилось. В данной работе приводятся результаты исследования местных разновидностей меда, характеризующих их антирадикальную и антимикробную активность.

Действительно, мёд обладает существенными антибактериальными свойствами против ряда патогенных бактерий [8]. Это сообщение сфокусировано на антибактериальных свойствах мёда, определяемых ботаническим и географическим происхождением мёда. Ботаническое и географическое происхождение нектара прямо зависимо с химической композицией мёда. Хорошо известно, что Азербайджанская Республика географически локализуется на протяжении 9 климатических зон, которые определяют ботаническую

специфичность растений - мёдоносков. Можно полагать, что этот факт будет отражаться и на антибактериальной активности мёда из различных географических зон Азербайджана.

Материалы и методы.

Объектом исследования являлись образцы мёда из различных регионов Азербайджана. Для этой цели мы использовали мёд, собранный из Ленкоранского, Закатальского, Балаканского, Исмаиллинского, Гедабекского и Самухского районов (см. рис. 1).



Рисунок 1 – Схема-карта Азербайджанской республики с указанием регионов - производителей, анализируемых образцов мёда

Непосредственно перед анализом мы нагревали образцы до 37 °С, чтобы растворить кристаллы. Исследования проводили DPPH методом, который позволяет определить способность объекта тушить стабильный свободный радикал DPPH (2,2 дифенил-1-пикрилгидрозил, C₁₈H₁₂N₅O₆) по схеме DPPH*+АН→DPPH–Н + А*. По мере восстановления DPPH происходит изменение его окраски от интенсивно-фиолетового до соломенно-желтого. Образцы мёда растворяли в 1 мл дистиллированной воды. Затем добавляли раствор DPPH в метаноле. И в течение 20 минут измеряли кинетику изменения оптической плотности при 517 нм [10].

Антимикробная активность мёда была измерена путём определения чистых зон, образуемых в результате диффузии вокруг лунок в питательной среде в чашках Петри, с образцами мёда. После посева культуры соответствующих патогенных микроорганизмов и добавления в лунки чистого (100 %) или разбавленного мёда, чашки инкубировали при 37 °С 24 часа. Ингибирование микроорганизмов определяли по радиусу чистых зон - зон ингибирования вокруг каждой лунки с мёдом, которые приведены в таблице в мм, при трёхкратной повторности и статистической обработке.

Результаты и обсуждение. В таблице 1 приведены данные, указывающие концентрацию мёда, способного тушить на 50% стабильный DPPH радикал. Величина указывается в сравнении с IC₅₀ для тролокса-

Таблица 1 – Антиокислительные и тушащие свободные радикалы свойства мёдов из различных районов Азербайджана

Мёда Азербайджана	IC ₅₀
Тролокс**	1
Закатала (горный)	7.8
Балакан (лесной)	1
Исмаиллы	5
Балакан (горный)	3
Закатала (низменный)	5
Кедабек	0
Самух	6
Ленкорань	5
	8
	-

Примечание: **Тролокс-6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоксилловая кислота (производное витамина E); IC₅₀ – концентрация образцов вызывающих тушение радикала на 50 % по отношению к тролоксу

производного витамина Е. Как видно из таблицы, три вида меда из различных районов Азербайджана обладают очень высокой АР и АО активностями - IC₅₀ которых менее 50 мг/мл.

Антимикробная активность образцов меда измеряли с использованием различных концентраций (20, 25 и 30 %) против патогенных бактерий (см. табл. 2).

Таблица 2 – Антимикробная активность чистого мёда производимого в различных регионах Азербайджана против ряда патогенных организмов.

Образцы мёда	Вид микроорганизмов		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	Радиус зон ингибирования в мм		
1	*18±1.18	13.5±2.43	23±0.88
2	20±0.78**	10.17±1.01	16.42±2.33
3	18.33±0.30	18.33±0.33	18.83±0.65
4	18.5±0.63	14.7±5±2.63	19.25±0.38
5	17.58±0.08	14.5±2.22	19.83±0.36
6	12.25±1.15	11.25±1,63	13.08±0.30
7	20±1.38	15±3.86	12.47±1.74
8	18.83±0.66	9.75±0.75	19.25±0.87
9	17.75±0.52	14.58±1.69	10.08±0.73

*все данные приведены на основе трёхкратных измерений

** статистическая обработка на основе определения доверительного интервала ±

1 – Белокан (лесной); 2 – Белокан (горный); 3 – Белокан (каштановый мёд); 4 – Загаталы (горный); 5 – Исмаиллы; 6 – Самух; 7 – Кедабек; 8 – Дашкесан; 9 – Ленкорань

Как следует из приведённых данных (см. табл. 2) наибольшей антибактериальной активностью против *Escherichia coli* обладает мёд, производимый в горных районах различных регионов страны - это мёд из Белокан, Кедабек и др. Подавление роста *Pseudomonas aeruginosa* мало отличается в зависимости от районов сбора. Также как и *E.coli* *Staphylococcus aureus* особо чувствительны к мёду собранному в горных районах. Предполагалось, что в мёде горных районов, которые как правило характеризуются светлой окраской, бактерицидные соединения в нектарах характерных для этих регионов растений - медоносов, присутствуют в большом количестве.

Таким образом, можно заключить, что мёд является чудесным природным продуктом, имеющим обширные свойства для поддержания здоровья и, в особенности, в отношении действия против различных патогенов. Эти и ещё другие неизведанные свойства мёда требуют серьёзных научных исследований, которые в частности могут разрешить проблему подавления устойчивых к антибиотикам бактерий.

Список литературы / References:

1. Ferreira I.C., Aires F.R., E., Barreira J.C.M., Estevinho L.M. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 2009, vol. 114, pp. 1438-1443.
2. Zahoor M., Naz S., Sangeen M. Antibacterial, antifungal and antioxidant activities of honey collected from Timergara (Dir, Pakistan). *Pak J Pharm Sci.*, 2014, vol. 27, no. 1, pp. 45-50.
3. Vallianou N.G., Gounari P., Skourtis A., Panagos J. Honey and its Anti-Inflammatory, Anti-Bacterial and Anti-Oxidant Properties. *General Med.*, 2014, vol. 2, no. 132.
4. Jantakee K., Tragoolpua Y. Activities of different types of Thai honey on pathogenic bacteria causing skin diseases, tyrosinase enzyme and generating free radicals. *Biological Research*, 2015, vol. 48, no. 4.
5. Mandal M.D., Mandal S. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed.*, 2011, vol. 1, no. 2, pp. 154-160.
6. Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.*, 2005, vol. 91, pp. 571-577.
7. Bogdanov S., Kilchenmann V., Fluri P. Influence of organic acids and components of essential oils on honey tastes. *Am. Bee. J.*, 1998, vol. 139, pp. 61-63.

8. Baltrusaityte V., Venskutonis P.R., Ceksteryte V. Antibacterial Activity of Honey and Beebread. *Food Technol. Biotechnol.*, 2007, vol. 45, no. 2, pp. 201-208.
9. Abdullah F., Abdulaziz M.A. The prophylactic and curative effect of cedar honey induced ulcers in rabbits. *The Sec. Int. Arab Api. Conf. Amman*, 1998, vol. 1, pp. 26-31.
10. Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.*, 2005, vol. 91, pp. 571-577.

СОРБЦИЯ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ ЦЕОЛИТАМИ МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ХИТОЗАНОМ

Горбач В.И.¹, Давыдова В.Н.¹, Володько А.В.¹, Шапкин Н.П.², Ермак И.М.¹

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова, ДВО РАН
пр. 100-летия Владивостока, 159, г. Владивосток, 690022, РФ
e-mail: vikdavidova@yandex.ru

² Дальневосточный Федеральный университет
Кампус ДВФУ, о. Русский, Владивосток, 690922, РФ

Аннотация. На основе природного цеолита получены сорбенты модифицированные хитозаном и хитозаном с последующим добавлением соли меди. Определены размеры и поверхностные потенциалы хитозана и эндотоксинов грамотрицательных бактерий (ЛПС) в растворе. Рассчитана константа связывания липополисахаридов с хитозаном, свидетельствующая о высокой аффинности взаимодействия. Найдено, что композиты цеолит + хитозан и особенно цеолит + хитозан + соль меди связывают из раствора от 60 до 99 % эндотоксина. Эти результаты подтверждены данными ЛАЛ-теста. Показано, что колонки с предлагаемыми сорбентами могут быть использованы для препаративного получения апиrogenных растворов.

Ключевые слова: хитозан, цеолиты, липополисахарид, сорбция эндотоксина.

SORPTION OF LIPOPOLYSACCHARIDES BY CHITOSAN MODIFIED ZEOLITES

Gorbach V.I.¹, Davydova V.N.¹, Volodko A.V.¹, Shapkin N.P.², Ermak I.M.¹

¹Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS
100-letuya Vladivostoka av., 159, Vladivostok, 690022, Russia
e-mail: vikdavidova@yandex.ru

²Far East Federal University
Campus FEFU, isl. Russkiy, Vladivostok, 690922, Russia

Annotation. Sorbents on the basis of natural zeolite modified with chitosan and chitosan with following addition of copper salts chitosan were prepared. The sizes and surface potentials of chitosan and endotoxins (LPS) of gram-negative bacteria were determined in solution. Calculated binding constant of lipopolysaccharide to chitosan indicated a high affinity of their interaction. It was found the zeolite-chitosan composite and especially zeolite-chitosan-copper composite in solution bind from 60 to 99 % of endotoxin. These results were confirmed by LAL assay. It is shown that column with the proposed sorbents can be used for preparative producing of pyrogen-free solutions.

Keywords: chitosan, zeolites, lipopolysaccharide, sorption of endotoxin.

Эндотоксины (липополисахариды, ЛПС) являются важным фактором патогенности грамотрицательных бактерий. При попадании бактерий в макроорганизм эндотоксины высвобождаются из клеток, вызывая целый ряд негативных физиологических эффектов, приводящих в ряде случаев к сепсису и летальному исходу.

Эндотоксины циркулируют не только в макроорганизме, но и присутствуют в различных жидкостях, что создает большие трудности для получения медицинских препаратов. В отличие от бактерий, эндотоксин не может быть удален стандартными методами, такими как автоклавирование или фильтрация. В связи с этим разрабатываются различные приемы удаления бактериальных эндотоксинов, основанные на специфическом связывании ЛПС с различными соединениями. Для сорбции ЛПС наиболее перспективными представляются вещества катионной природы, способные связывать эндотоксины с высокой аффинностью. К таким веществам относится хитозан – β-1,4-глюкозаминогликан – полностью или частично N-деацетилированное производное хитина. Ранее нами была показана высокая специфичность связывания эндотоксинов грам-отрицательных бактерий в растворах с хитозаном с константой связывания 10^5 - 10^6 M⁻¹ [1]. В связи с этим весьма перспективным представляется разработка на основе хитозана высокоэффективных сорбентов для очистки биологических жидкостей от эндотоксинов.

Цеолиты - большая группа близких по составу и свойствам природных минералов, представляющих собой кристаллические гидратированные алюмосиликаты щелочных и щелочноземельных металлов. Цеолиты нетоксичны, не канцерогенны и используются в различных областях промышленности, безопасны для использования в медицинских устройствах: Цеолит легко добываемый и недорогостоящий материал.

Цеолит из Чугуевского района Приморского края (Россия) был смешан с раствором хитозана и подщелочен аммиаком. Далее он был смешан с раствором сульфата меди, промыт водой и снова смешан с раствором феррицианида калия. После промывки и высушивания он содержал около 3 % хитозана и 2.8 % меди