



Фиг. 1. График зависимости влияния экстрактов, полученных из соцветий и стеблей душицы, на интенсивность свечения *P. leiognathi* Sh1, выраженной в БЛИ (%) через 60 минут



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования

«Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

295007 Республика Крым, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, 4

**КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ В.И. ВЕРНАДСКОГО**



*Отдел интеллектуальной
собственности*

Отдел интеллектуальной собственности

Начальник отдела:
Бондаренко Даниил Владимирович
Тел. раб. +7(3652)51 08 69
Тел. моб. +7(978) 618 63 17
[E-mail:work.daniil@mail.ru](mailto:work.daniil@mail.ru)

г. Симферополь, ул. Ялтинская, 20, каб. 308

**БИОТЕХНОЛОГИЯ
№2**

2026 г.

Патент на изобретение № 2867877

Авторы:

**Сафронюк Сергей Леонидович,
Кияев Амет-Хан Бекирович,
Османова Селина Ягьяевна,
Литвинюк Дарья Александровна,
Муединова Эльзара Сейрановна**

СПОСОБ ОЦЕНКИ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ ИЗВЛЕЧЕНИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ЯСНОТКОВЫЕ (LAMIACEAE) И ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НИХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Изобретение относится к области экологии, фармакологии, фармации, биотехнологии и медицины, а именно к методам оценки биологической активности и токсичности веществ, в частности, к способам оценки антимикробных свойств растительных извлечений и биологически активных веществ (БАВ), полученных из растений семейства Яснотковые (Lamiaceae). Технический результат изобретения заключается в расширении области применения способа оценки антимикробной активности веществ за счет обеспечения возможности оценивать антимикробную активность растительных экстрактов семейства Яснотковые (Lamiaceae) и их БАВ, а также в снижении временных и финансовых затрат на исследование антимикробной активности веществ, благодаря исключению необходимости тестирования стандартных образцов антибиотиков и сопоставления результатов с показателями биолюминесценции при воздействии стандартных образцов антибиотиков. Сущность изобретения заключается в том, что в способе оценки антимикробных свойств извлечений, полученных из растений семейства Яснотковые (Lamiaceae) и выделенных из них БАВ, включающем подготовку бактериальной суспензии путём разбавления ночной культуры тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 3 % раствором натрия хлорида, смешивание её с анализируемым образцом, инкубацию, измерение интенсивности свечения фотобактерий, вычисление индекса биолюминесценции по формуле: $БЛИ = I_i/I_0 \times 100 \%$, где I_i - интенсивность люминесценции бактерий в опытной пробе, I_0 - интенсивность свечения бактерий в контроле с последующим определением показателя эффективности концентрации вещества (ЭК), ингибирующего биолюминесценцию по сравнению с биолюминесценцией контрольных образцов, согласно изобретению, получают растительные извлечения путем экстракции растений семейства Яснотковые (Lamiaceae) с последующим выделением БАВ, используют бактериальную суспензию с

концентрацией 2500 кл./мл, оценивают антимикробную активность, сопоставляя показатели биолюминесценции опытных и контрольных образцов, без использования стандартных образцов антибиотиков, которые сравнивают с контрольными образцами, не содержащими анализируемое вещество и 70 % спирт, а также не содержащими анализируемое вещество, но содержащими 70 % спирт. Способ реализуется следующим образом.

На первом этапе осуществляют получение извлечения, для чего проводят экстракцию растений семейства Яснотковые (Lamiaceae), например, листьев, стеблей, цветков, при этом к навеске измельченного растительного сырья, предварительно просеянного через сито с диаметром пор 1 мм, добавляют 70 % этиловый спирт в соотношении 1:10 и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 150 минут. Полученные экстракты после остывания до комнатной температуры фильтруют через сухой бумажный фильтр.

Далее переходят к подготовке тест-штаммов светящихся бактерий, используя панель природных светящихся бактерий *P. leiognathi* Sh1. Бактериальную суспензию готовят путем разбавления ночной культуры тест-штамма *P. leiognathi* Sh1 3 % натрия хлоридом в 20 раз до достижения содержания в ней количества клеток микроорганизмов - 2500 кл./мл.

Затем осуществляют инкубацию тест-штаммов с исследуемыми веществами, для чего к испытуемым растворам антибиотиков вносят 50 мкл бактериальной суспензии; тест-штаммы инкубируют с различными концентрациями извлечений в течение 60 минут.

После инкубации производят измерение биолюминесценции, для чего интенсивность биолюминесценции измеряют с использованием люминометра или микропланшетного ридера.

На заключительном этапе проводят анализ результатов, действие оценивают по ингибированию биолюминесценции светящихся бактерий в зависимости от концентраций антибиотиков и вычисления индекса биолюминесценции *P. leiognathi* Sh1 по следующей формуле: $БЛИ = I_i/I_0 \times 100 \%$, где I_i - интенсивность люминесценции бактерий в опытной пробе, I_0 - интенсивность свечения бактерий в контроле; сравнивают интенсивность биолюминесценции тест-штаммов, инкубированных с исследуемыми веществами, с контрольными значениями (интенсивность биолюминесценции штаммов, инкубированных без добавления исследуемых веществ и с 70 % спиртом); рассчитывают параметры антимикробной активности (снижение люминесценции на 50 или 80 % - ЭК50 или ЭК80 соответственно).

Формула изобретения

Способ оценки антимикробных свойств веществ, включающий подготовку бактериальной суспензии путём разбавления ночной культуры тест-штамма фотобактерий *Photobacterium leiognathi* Sh1 3% раствором натрия хлорида, смешивание её с анализируемым образцом, инкубацию, измерение интенсивности свечения фотобактерий, вычисление индекса биолюминесценции по формуле: $БЛИ = I_i/I_0 \times 100\%$, где I_i – интенсивность люминесценции бактерий в опытной пробе, I_0 – интенсивность свечения бактерий в контроле, с последующим определением показателя эффективной концентрации вещества, ингибирующего биолюминесценцию по сравнению с биолюминесценцией контрольных образцов, отличающийся тем, что получают растительные извлечения из растений семейства Яснотковые (Lamiaceae) путем экстракции 70% этиловым спиртом, при этом используют бактериальную суспензию фотобактерий с концентрацией 2500 кл./мл и оценивают антимикробную активность, сопоставляя показатели биолюминесценции опытных и контрольных образцов, не содержащих анализируемое вещество и 70% этиловый спирт, а также не содержащих анализируемое вещество, но содержащих 70% этиловый спирт.