



Противотуберкулезная активность аврана лекарственного экстракта сухого в исследованиях *in vitro*

Г.Н. МАСЛЯКОВА¹, Т.И. МОРОЗОВА¹, С.Н. АНДРЕЕВСКАЯ², Т.Г. СМЕРНОВА², А.Б. БУЧАРСКАЯ¹,
Н.А. НАВОЛОКИН¹

¹ ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» МЗ РФ, г. Саратов, РФ

² ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза», Москва, РФ

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: оценить противотуберкулезную активность активной фармацевтической субстанции (АФС) экстракта аврана лекарственного сухого (далее – аврана) *in vitro* в системе BACTEC MGIT 960.

Материалы и методы. Исследования *in vitro* на базе отдела микробиологии ФГБНУ «ЦНИИТ» проводили на лабораторном штамме *M. tuberculosis* H37Rv, клиническом чувствительном изоляте *M. tuberculosis*, трех клинических изолятах с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), двух клинических изолятах с широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ).

Результаты. Установлено, что АФС аврана обладает бактериостатической активностью *in vitro* в отношении *M. tuberculosis*, включая клинические изоляты с МЛУ и ШЛУ с минимальной ингибирующей концентрацией (МИК) 128 мг/мл. Показано, что АФС аврана в изученных концентрациях не проявляла бактерицидной активности в отношении *M. tuberculosis*.

Ключевые слова: экстракт аврана лекарственного, противотуберкулезная активность, исследования *in vitro*.

Для цитирования: Маслякова Г.Н., Морозова Т.И., Андреевская С.Н., Смирнова Т.Г., Бучарская А.Б., Наволокин Н.А. Противотуберкулезная активность аврана лекарственного экстракта сухого в исследованиях *in vitro* // Туберкулез и болезни лёгких. – 2026. – Т. 104, № 4. – С. 49–57. <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2026-104-4-49-57>

In Vitro Anti-tuberculosis Activity of *Gratiola Officinalis* Dry Extract

Г.Н. МАСЛЯКОВА¹, Т.И. МОРОЗОВА¹, С.Н. АНДРЕЕВСКАЯ², Т.Г. СМЕРНОВА², А.Б. БУЧАРСКАЯ¹,
Н.А. НАВОЛОКИН¹

¹ Saratov State Medical University named after V. I. Razumovsky, Ministry of Health of the Russian Federation, Saratov, Russia

² Central Tuberculosis Research Institute, Moscow, Russia

ABSTRACT

Objective: to evaluate the *in vitro* anti-tuberculosis activity of the active pharmaceutical ingredient (API) of *Gratiola officinalis* dry extract using BACTEC MGIT 960 system.

Materials and Methods. *In vitro* studies were conducted at the Department of Microbiology of the Central Tuberculosis Research Institute using seven *M. tuberculosis* strains: one laboratory *M. tuberculosis* H37Rv strain, one clinical drug-susceptible strain, three multidrug-resistant (MDR) clinical strains, and two clinical extensively drug-resistant (XDR) strains.

Results. The active pharmaceutical ingredient (API) of *Gratiola officinalis* dry extract demonstrated *in vitro* bacteriostatic activity against *M. tuberculosis*, including MDR and XDR clinical isolates, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 128 mg/mL. The API of *Gratiola officinalis* dry extract showed no bactericidal activity against *M. tuberculosis* at the tested concentrations.

Keywords: *Gratiola officinalis* extract; antituberculosis activity; *in vitro* studies.

For citation: Maslyakova G.N., Morozova T.I., Andreevskaya S.N., Smirnova T.G., Bucharskaya A.B., Navolokin N.A. *In Vitro* Anti-tuberculosis Activity of *Gratiola Officinalis* Dry Extract. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2026, vol. 104, no. 4, pp. 49–57. (In Russ.) <http://doi.org/10.58838/2075-1230-2026-104-4-49-57>

Для корреспонденции:
Маслякова Галина Никифоровна
E-mail: gmasyakova@yandex.ru

Correspondence:
Galina N. Maslyakova
Email: gmasyakova@yandex.ru

Введение

Лечение туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ-ТБ) сопряжено с тяжелыми нежелательными реакциями на лекарственные препараты у больных [7]. В сложившейся ситуации актуальна разработка новых противотуберкулезных препаратов (ПТП), по механизму действия отличающихся от существующих, что позволит избежать перекрестной резистентности возбудителя [1, 11]. Биофлавоноиды, полученные из лекарственного растительного сырья (ЛРС), к которым крайне редко развивается устойчивость патогенов, являются в этом отношении перспективными объектами для исследования [2, 8, 12].

Ранее в эксперименте *in vitro* было отмечено подавление роста культуры лабораторного чувствительного штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и клинического изолята МБТ с МЛУ (при культивировании на плотной среде Левенштейна-Йенсена) экстрактом аврана, полученного авторским способом [3, 6]. Золотым стандартом тестирования лекарственной чувствительности возбудителя туберкулеза являются тесты в системе автоматической регистрации роста культур ВАСТЕС MGIT 960 с использованием жидкой питательной среды Миддлбука 7Н9 благодаря равномерному распределению веществ в объеме среды [6, 7, 9].

Цель исследования

Оценить противотуберкулезную активность активной фармацевтической субстанции (АФС) аврана лекарственного экстракта сухого (GMP-производство АО «Фармцентр ВИЛАР») *in vitro* в системе ВАСТЕС MGIT 960.

Материалы и методы

Исследования АФС экстракта аврана лекарственного (GMP-производство АО «Фармцентр ВИЛАР») проводили на базе отдела микробиологии ФГБНУ «ЦНИИТ» на лабораторном штамме *M. tuberculosis* H37Rv, клиническом чувствительном изоляте МБТ, 3 изолятах МБТ с МЛУ, различающихся чувствительностью к пиразинамиду и наличием мутаций в промоторе гена *inhA*, и 2 изолятах МБТ с ШЛУ, различающихся чувствительностью к бедаквилину и мутациями в *gyrA* (табл. 1).

Для определения диапазона концентраций экстракта аврана при исследовании в жидкой питательной среде Миддлбука 7Н9 ориентировались на результаты определения МИК данного экстракта для *M. tuberculosis*, определенной на плотной питательной среде Левенштейна-Йенсена [3]. На первом этапе использовали серию двукратных разведений субстанции в диапазоне от 1 мг/мл до 128 мг/мл.

Сухой экстракт растворяли в среде Миддлбука 7Н9 так, чтобы получить максимальную исследуемую концентрацию препарата 128 мг/мл. Стери-

Таблица 1. Характеристика клинических изолятов *M. tuberculosis*, использованных для тестирования

Table 1. Characteristics of clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates used for susceptibility testing

№	Характер резистентности изолята	Чувствительность к препаратам	Устойчивость к препаратам	Мутации в генах МБТ (кодон/положение_замена)			
				<i>rpoB</i>	<i>katG</i>	<i>inhA</i>	<i>gyrA</i>
15-0932	МЛУ	Et Z Prt Amk Cp Lfx Mfx Lzd Bdq Dlm Cfz Cs	H R	531_Ser->Leu	315_Ser->Thr(1)	8_T->A/C	WT
25-4329	ШЛУ	Dlm Cfz Cs	H R Et Z Prt Amk Cp Lfx Mfx Lzd Bdq	531_Ser->Leu	315_Ser->Thr(1)	15_C->T	90_Ala-Val
25-4636	МЛУ	Et Z Prt Amk Cp Lfx Mfx Lzd Bdq Dlm Cfz Cs	H R	531_Ser->Leu	315_Ser->Thr(1)	WT	WT
25-4658	ШЛУ	Prt Bdq Dlm Cfz Cs	H R Et Z Amk Cp Lfx Mfx Lzd	531_Ser->Leu	315_Ser->Thr(1)	15_C->T	94_Asp-Gly
25-5313	МЛУ	Et Prt Amk Cp Lfx Mfx Lzd Bdq Dlm Cfz Cs	H R Z	531_Ser->Leu	315_Ser->Thr(1)	WT	WT
25-5156	чувствительный	H R Et Z Prt Amk Cp Lfx Mfx Lzd Bdq Dlm Cfz Cs	нет	WT	WT	WT	WT

Примечание: WT – дикий тип гена (отсутствие мутаций); противотуберкулезные препараты: Amk – амикацин, Bdq – бедаквилин, Cfz – клофазимин, Cp – капреомицин, Cs – циклосерин, Dlm – деламанид, Et – этионамид, H – изониазид, Lfx – левофлоксацин, Lzd – линезолид, Mfx – моксифлоксацин, Prt – протиионамид, R – рифампицин, Z – пиразинамид.
Note: WT, wild-type gene (no mutations detected); anti-tuberculosis drugs: Amk, amikacin; Bdq, bedaquiline; Cfz, clofazimine; Cp, capreomycin; Cs, cycloserine; Dlm, delamanid; Et, ethionamide; H, isoniazid; Lfx, levofloxacin; Lzd, linezolid; Mfx, moxifloxacin; Prt, prothionamide; R, rifampicin; Z, pyrazinamide.

лизацию суспензии осуществляли пропусканием через фильтр Millipore с размером пор 5 мкм и 0,22 мкм. Из полученного стерильного раствора готовили рабочие разведения исследуемой субстанции. На первом этапе исследовали 8 концентраций экстракта (от 1 мг/мл до 128 мг/мл), на втором этапе – 5 концентраций, отобранных по результатам первого этапа. Каждую концентрацию экстракта исследовали в дубликate.

*Подготовка культур *M. tuberculosis* для проведения исследования.* Лабораторный вирулентный штамм *M. tuberculosis* H37Rv (ТМС № 102, штамм № 700403 из коллекции ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ) и клинический изолят МБТ с МЛУ 15-0932, депонированные в криопробирках с жидкой питательной средой Миддлбука 7Н9 с ростовой добавкой OADC и 20% глицерином при -70°C в рабочей коллекции микобактериальных культур ФГБНУ «ЦНИИТ», восстанавливали из хранения посевом медленно размороженной суспензии на плотную яичную среду Левенштейна-Йенсена (на 2 пробирки со средой) [5]. В качестве клинических были использованы свежeweделенные изоляты *M. tuberculosis*.

Для стандартизации культуры по фазе роста и для определения концентрации *M. tuberculosis*, бактериальную массу, выросшую на среде Левенштейна-Йенсена, или культуру, выделенную в пробирке MGIT, пассировали при 37°C в жидкой питательной среде Middlebrook 7Н9 с ростовой добавкой OADC – 2 цикла по 14 дней.

Число колониеобразующих единиц (КОЕ) в суспензии определяли, измеряя оптическую плотность на спектрофотометре Ultraspec10 (Amersham, США). Для засева в пробирки MGIT концентрацию микобактерий в суспензии, соответствующей 5-му стандарту мутности (5×10^8 клеток/мл), доводили до 5×10^6 клеток/мл (внесение в пробирки MGIT в объеме 500 мкл).

Определение бактериостатической активности экстракта аврана. Детекцию роста культур МБТ в системе автоматической регистрации роста культур BACTEC MGIT 960 (Becton Dickinson, США) в пробирках MGIT определяли по регистрации светимости флюорофора, расположенного под полупроницаемой мембраной на дне пробирки. Детекцию роста культур проводили каждый час с помощью программного обеспечения.

Контроль роста культуры в присутствии экстракта осуществляли количественной ПЦР в режиме реального времени. Через 2 недели после регистрации в системе BACTEC MGIT роста культуры в контрольных пробирках (без экстракта) тест-пробирки извлекали из прибора, перемешивали, отбирали 500 мкл суспензии МБТ и возвращали пробирки обратно в прибор. Для выделения ДНК *M. tuberculosis* использовали 500 мкл суспензии из каждой лунки, после чего проводили ПЦР на амплификаторе CFX96Touch (Bio-Rad, США). Выделение ДНК

и ПЦР проводили набором «Амплитуб-РВ» (Синтол, Россия). Число геномных эквивалентов (ГЭ) МБТ в пробирке определяли по калибровочной кривой соответствия пороговых циклов амплификации числу копий ДНК в амплификационной пробирке, построенной с использованием стандартизованных контрольных образцов ДНК из набора «Амплитуб-РВ».

Учитывали пороговый цикл амплификации, регистрируемый по каналу ROX, т.к. он показывает накопление однокопийного гена *regX* и более точно отражает число клеток в образце, чем сигнал по каналу FAM, показывающий накопление многокопийной последовательности IS6110, число которой отличается в клетках разных штаммах. О наличии бактериостатической активности экстракта свидетельствовало отсутствие прироста числа копий ДНК по сравнению с исходной концентрацией. Процент ингибции роста культуры в присутствии экстракта определяли по формуле:

$$I(\%) = \left(1 - \frac{N_{test}}{N_c}\right) \times 100\%$$

где:

$I(\%)$ – процент ингибции роста культуры;

N_{test} – число ГЭ МБТ в присутствии тестируемого соединения;

N_c – число ГЭ МБТ в контроле.

Определение бактерицидной активности экстракта. Клетки *M. tuberculosis* из пробирок MGIT с экстрактом, в которых не был зафиксирован рост культуры в течение 42 суток (стандартное время исследования в системе BACTEC MGIT 960), отмывали от среды с АФС. Осадок переносили на свежую среду в пробирку MGIT и загружали в систему автоматической регистрации роста BACTEC MGIT 960. Детекцию роста культур проводили с помощью программного обеспечения Epicenter (Becton Dickinson, США). Время проведения эксперимента составило 42 дня согласно протоколу производителя. После этого все выросшие культуры подвергали контролю на принадлежность к МБТК методом ПЦР в режиме реального времени набором «Амплитуб-РВ», Синтол.

Для контроля роста в системе BACTEC MGIT 960 неспецифической микрофлоры проводили посев культуры на кровяной агар [10]. При появлении роста микроорганизмов на кровяном агаре через 24 ч инкубации при 37°C делался вывод о контаминации исследуемого материала, и в этом случае результат не подлежал учету.

Результаты

Бактериостатическая активность экстракта аврана на жидкой среде Миддлбука 7Н9 в системе BACTEC MGIT960 для лабораторного чувствитель-

Таблица 2. Число копий ДНК штамма *M. tuberculosis* H37Rv, культивируемого в жидкой питательной среде Миддлбрука 7H9 в присутствии серии концентраций экстракта аврана

Table 2. DNA copy number of *M. tuberculosis* H37Rv strain cultured in Middlebrook 7H9 liquid medium in the presence of serial concentrations of *Gratiola officinalis* extract

Концентрация субстанции, мг/мл	Ct (ROX)		Число ГЭ МБТ		Ингибция роста культуры, %
	Среднее	СО	Среднее	СО	
0 (контроль)	10,66	0,34	8,12x10 ⁸	1,87x10 ⁸	–
1	10,67	0,18	7,99x10 ⁸	1,00x10 ⁸	нет
2	10,73	0,20	7,67x10 ⁸	1,04x10 ⁸	5,52
4	10,82	0,17	7,21x10 ⁸	8,50x10 ⁷	11,15
8	11,57	0,48	4,42x10 ⁸	1,43x10 ⁸	45,58
16	12,13	0,03	2,92x10 ⁸	5,66x10 ⁶	63,98
32	13,09	0,28	1,54x10 ⁸	2,96x10 ⁷	81,08
64	13,80	0,57	9,68x10 ⁷	3,70x10 ⁷	88,08
128	28,38	0,26	4,34x10 ³	7,73x10 ²	99,999

Примечание: Ct (ROX) – пороговый цикл ПЦР по каналу регистрации ROX, СО – стандартное отклонение (здесь и в последующих таблицах 3–8).

Note: Ct (ROX), PCR threshold cycle in the ROX detection channel; SD, standard deviation (here and in Tables 3–8).

ного штамма *M. tuberculosis* H37Rv и клинического изолята МБТ с МЛУ.

Экстракт в концентрации 1 мг/мл, 2 мг/мл и 4 мг/мл не оказывал или практически не оказывал влияния на рост культуры *M. tuberculosis* H37Rv (табл. 2). При 8 мг/мл и 16 мг/мл экстракт подавлял рост культуры на 45,58% и 63,98% соответственно. При 32 мг/мл и 64 мг/мл рост тест-штамма был ингибирован на 81,08% и 88,08% соответственно. При 128 мг/мл экстракт полностью блокировал рост культуры тест-штамма: выявляемое в ПЦР число копий ДНК соответствовало исходному.

Бактериостатическая активность экстракта аврана в отношении клинического изолята МБТ с МЛУ 15-0932. При концентрации 1 мг/мл, 2 мг/мл и 4 мг/мл экстракт не оказал влияния на рост МБТ (табл. 3). При 8 мг/мл и 16 мг/мл он подавлял рост культуры на 56,06% и 67,88% соответственно. При 32 мг/мл и 64 мг/мл рост тестируемого изолята был ингибирован на 84,88% и 93,81% соответственно. При 128 мг/мл он полностью блокировал рост тестируемого изолята.

В результате на первом этапе проведена оценка экстракта аврана на двух коллекционных изо-

Таблица 3. Число копий ДНК изолята *M. tuberculosis* 15-0932, культивируемого в жидкой питательной среде Миддлбрука 7H9 в присутствии экстракта аврана

Table 3. DNA copy number of *M. tuberculosis* 15-0932 isolate cultured in Middlebrook 7H9 liquid medium in the presence of *Gratiola officinalis* extract

Концентрация субстанции, мг/мл	Ct (ROX)		Число ГЭ МБТ		Ингибция роста культуры, %
	Среднее	СО	Среднее	СО	
0 (контроль)	11,52	0,07	4,45x10 ⁸	2,15x10 ⁷	–
1	11,54	0,17	4,40x10 ⁸	2,10x10 ⁷	нет
2	11,53	0,35	4,49x10 ⁸	1,06x10 ⁸	нет
4	11,58	0,57	4,43x10 ⁸	1,69x10 ⁸	нет
8	12,73	0,21	1,95x10 ⁸	2,74x10 ⁷	56,06
16	13,19	0,26	1,43x10 ⁸	2,55x10 ⁷	67,88
32	14,31	0,42	6,73x10 ⁷	1,93x10 ⁷	84,88
64	15,62	0,49	2,75x10 ⁷	9,16x10 ⁶	93,81
128	28,15	0,02	5,05x10 ³	7,34x10 ¹	99,999

Таблица 4. Число копий ДНК чувствительного клинического изолята МБТ 25-5156, культивируемого в жидкой среде Миддлбука 7Н9 в присутствии экстракта аврана

Table 4. DNA copy number of drug-susceptible clinical *M. tuberculosis* 25-5156 isolate cultured in Middlebrook 7H9 liquid medium in the presence of *Gratiola officinalis* extract

Концентрация субстанции, мг/мл	Ct (ROX)		Число ГЭ МБТ		Ингибция роста культуры, %
	Среднее	СО	Среднее	СО	
0 (контроль)	11,07	0,26	6,09x10 ⁸	1,09x10 ⁸	–
4	11,16	0,50	5,87x10 ⁸	1,98x10 ⁸	нет
8	11,46	0,31	4,68x10 ⁸	9,89x10 ⁷	23,24
16	12,44	0,10	2,37x10 ⁸	1,60x10 ⁷	61,14
32	13,15	0,34	1,47x10 ⁸	3,39x10 ⁷	75,84
64	14,23	0,01	6,93x10 ⁷	6,71x10 ⁵	88,63
128	28,21	0,46	4,96x10 ³	1,54x10 ³	99,999

лятах *M. tuberculosis* в диапазоне концентраций от 1 мг/мл до 128 мг/мл. Определен диапазон концентраций экстракта, активных в отношении МБТ, и осуществлен подбор набора концентраций для последующего тестирования на клинических изолятах с различными профилями резистентности. МИК экстракта аврана в отношении лабораторного чувствительного штамма *M. tuberculosis* H37Rv и клинического изолята МБТ с МЛУ составляет 128 мг/мл. В исследуемых концентрациях 8-64 мг/мл экстракт аврана ингибирует рост части популяции *M. tuberculosis*. При 4 мг/мл и ниже экстракт не оказывает существенного влияния на рост культуры *M. tuberculosis*.

Для испытания на клинических изолятах МБТ с различным спектром резистентности было отобрано 6 концентраций: 1) МИК, определенную для

двух коллекционных изолятов МБТ – 128 мг/мл; 2) 4 разведения, показавшие частичное подавление роста двух коллекционных изолятов МБТ – 64 мг/мл, 32 мг/мл, 16 мг/мл, 8 мг/мл; 3) концентрация, следующая за последним субингибирующим разведением, которая не подавляла рост коллекционных изолятов МБТ, но потенциально могла бы ингибировать рост клинических изолятов – 4 мг/мл.

Бактериостатическая активность экстракта аврана в отношении чувствительного клинического изолята *M. tuberculosis* 25-5156. Подавление роста тестируемого изолята МБТ экстрактом при 4 мг/мл было незначительным – 23,24% (табл. 4). При 16 мг/мл, 32 мг/мл, 64 мг/мл рост изолята был ингибирован на 61,14%, 75,84% и 88,63% соответственно. При 128 мг/мл экстракт полностью блокировал рост культуры тестируемого изолята:

Таблица 5. Число копий ДНК клинического изолята МБТ с МЛУ 25-4636, культивируемого в жидкой питательной среде Миддлбука 7Н9 в присутствии экстракта аврана

Table 5. DNA copy number of clinical MDR *M. tuberculosis* 25-4636 isolate cultured in Middlebrook 7H9 liquid medium in the presence of *Gratiola officinalis* extract

Концентрация субстанции, мг/мл	Ct (ROX)		Число ГЭ МБТ		Ингибция роста культуры, %
	Среднее	СО	Среднее	СО	
0 (контроль)	11,00	0,76	6,77x10 ⁸	3,36x10 ⁸	–
4	11,01	0,96	7,01x10 ⁸	4,31x10 ⁸	нет
8	11,97	0,64	3,43x10 ⁸	1,45x10 ⁸	49,35
16	12,42	0,69	2,53x10 ⁸	1,15x10 ⁸	62,67
32	13,42	0,45	1,24x10 ⁸	3,78x10 ⁷	81,68
64	14,26	1,16	7,91x10 ⁷	5,69x10 ⁷	88,32
128	28,01	0,68	5,84x10 ³	2,62x10 ³	99,999

выявляемое в ПЦР число копий ДНК *M. tuberculosis* соответствовало исходному.

Бактериостатическая активность экстракта аврана в отношении клинического изолята МБТ с МЛУ 25-4636. При 4 мг/мл экстракт не оказывал влияния на рост культуры клинического изолята МБТ с МЛУ 25-4636 (табл. 5). При 8 мг/мл и 16 мг/мл экстракт подавлял рост культуры на 49,35% и 62,67% соответственно. При 32 мг/мл и 64 мг/мл рост тестируемого изолята был ингибирован на 81,68% и 88,32% соответственно. При 128 мг/мл экстракт полностью блокировал рост культуры тестируемого изолята.

Бактериостатическая активность экстракта аврана в отношении клинического изолята МБТ с МЛУ 25-5313. При 4 мг/мл экстракт не оказывал влияния на рост культуры клинического изо-

лята МБТ с МЛУ 25-5313 (табл. 6). При 8 мг/мл и 16 мг/мл он подавлял рост культуры на 38,65% и 46,82% соответственно. При 32 мг/мл и 64 мг/мл рост тестируемого изолята был ингибирован на 79,83% и 94,13% соответственно. При 128 мг/мл экстракт полностью блокировал рост культуры тестируемого изолята.

Бактериостатическая активность экстракта аврана в отношении клинического изолята МБТ с ШЛУ 25-4329. При 4 мг/мл экстракт не оказывал влияния на рост культуры клинического изолята МБТ с ШЛУ 25-4329 (табл. 7). При 8 мг/мл и 16 мг/мл экстракт подавлял рост культуры на 46,69% и 55,30% соответственно. При 32 мг/мл и 64 мг/мл рост тестируемого изолята был ингибирован на 86,44% и 95,68% соответственно. При

Таблица 6. Число копий ДНК клинического изолята МБТ с МЛУ 25-5313, культивируемого в жидкой питательной среде Миддлбрука 7Н9 в присутствии экстракта аврана

Table 6. DNA copy number of clinical MDR *M. tuberculosis* 25-5313 isolate cultured in Middlebrook 7H9 liquid medium in the presence of *Gratiola officinalis* extract

Концентрация субстанции, мг/мл	Ct (ROX)		Число ГЭ МБТ		Ингибция роста культуры, %
	Среднее	СО	Среднее	СО	
0 (контроль)	12,37	0,30	2,50x10 ⁸	5,18x10 ⁷	–
4	12,44	1,07	2,69x10 ⁸	1,81x10 ⁸	нет
8	13,16	0,71	1,54x10 ⁸	7,16x10 ⁷	38,65
16	13,41	0,87	1,33x10 ⁸	7,49x10 ⁷	46,82
32	14,73	0,42	5,05x10 ⁷	1,45x10 ⁷	79,83
64	16,58	0,70	1,47x10 ⁷	6,79x10 ⁶	94,13
128	29,06	0,88	2,96x10 ³	1,68x10 ³	99,999

Таблица 7. Число копий ДНК клинического изолята с ШЛУ 25-4329 культивируемого в жидкой питательной среде Миддлбрука 7Н9 в присутствии серии концентраций экстракта

Table 7. DNA copy number of clinical XDR *M. tuberculosis* isolate 25-4329 cultured in Middlebrook 7H9 liquid medium in the presence of serial concentrations of *Gratiola officinalis* extract

Концентрация субстанции, мг/мл	Ct (ROX)		Число ГЭ МБТ		Ингибция роста культуры, %
	Среднее	СО	Среднее	СО	
0 (контроль)	11,23	0,25	5,47x10 ⁸	9,50x10 ⁷	–
4	11,27	0,71	5,60x10 ⁸	2,63x10 ⁸	нет
8	12,19	0,59	2,92x10 ⁸	1,16x10 ⁸	46,69
16	12,43	0,46	2,45x10 ⁸	7,58x10 ⁷	55,30
32	14,14	0,23	7,43x10 ⁷	1,15x10 ⁷	86,44
64	15,81	0,14	2,36x10 ⁷	2,29x10 ⁶	95,68
128	28,00	0,33	5,67x10 ³	1,25x10 ³	99,999

Таблица 8. Число копий ДНК клинического изолята МБТ с ШЛУ 25-4658, культивируемого в жидкой питательной среде Миддлбрука 7Н9 в присутствии экстракта аврана
Table 8. DNA copy number of clinical XDR *M. tuberculosis* isolate 25-4658 cultured in Middlebrook 7H9 liquid medium in the presence of *Gratiola officinalis* extract

Концентрация субстанции, мг/мл	Ct (ROX)		Число ГЭ МБТ		Ингибция роста культуры, %
	Среднее	СО	Среднее	СО	
0 (контроль)	11,76	0,72	4,01x10 ⁸	1,90x10 ⁸	–
4	11,93	0,73	3,58x10 ⁸	1,71x10 ⁸	нет
8	12,49	1,02	2,57x10 ⁸	1,54x10 ⁸	35,92
16	12,81	1,24	2,18x10 ⁸	1,66x10 ⁸	45,52
32	13,45	0,73	1,26x10 ⁸	6,02x10 ⁷	68,65
64	14,80	0,89	5,15x10 ⁷	2,96x10 ⁷	87,15
128	28,04	0,49	5,59x10 ³	1,86x10 ³	99,999

128 мг/мл экстракт полностью блокировал рост изолята.

Бактериостатическая активность экстракта аврана в отношении клинического изолята МБТ с ШЛУ 25-4658. Экстракт в концентрации 4 мг/мл не оказывал влияния на рост культуры клинического изолята МБТ с ШЛУ 25-4658 (табл. 8). При 8 мг/мл и 16 мг/мл экстракт подавлял рост культуры на 35,92% и 45,52% соответственно. При 32 мг/мл и 64 мг/мл рост изолята был ингибирован на 68,65% и 87,15% соответственно. При 128 мг/мл экстракт полностью блокировал рост культуры тестируемого изолята.

Таким образом, при оценке бактериостатической активности экстракта на 5 клинических изолятах МБТ показано, что при 4 мг/мл он не влияет на рост МБТ. В концентрациях 8 мг/мл – 64 мг/мл активность экстракта различалась для разных изолятов (табл. 9). При 8 мг/мл подавление роста культуры

разных клинических изолятов МБТ варьировало от 23,24% до 49,35%, 16 мг/мл – от 45,52% до 62,67%, 32 мг/мл – от 68,65% до 86,44%, 64 мг/мл – от 97,15% до 95,68%.

МИК экстракта аврана в отношении всех изолятов составила 128 мг/мл: в образцах, содержащих экстракт в этой концентрации, методом количественной ПЦР выявлялось число копий ДНК *M. tuberculosis*, эквивалентное исходному. В более низких концентрациях АФС аврана лекарственного экстракта сухого (GMP-производство АО «Фармцентр ВИЛАР») дозозависимо приводила к частичному подавлению роста культуры *M. tuberculosis*. Выявление исходного количества ГЭ МБТ после инкубации с экстрактом может происходить как при гибели клеток МБТ, если тестируемое вещество имеет бактерицидное действие, так и при подавлении роста культуры в присутствии тестируемой субстанции (бактериостатическое действие). Для определения

Таблица 9. Обобщенные данные ингибции роста культуры клинических изолятов *M. tuberculosis* в присутствии экстракта аврана в концентрациях 8 мг/мл – 64 мг/мл
Table 9. Summary data on the growth inhibition of clinical *M. tuberculosis* isolates by *Gratiola officinalis* extract at concentrations of 8–64 mg/mL

№ изолята	Категория чувствительности	Ингибция роста культуры (%) в присутствии экстракта в концентрации			
		8 мг/мл	16 мг/мл	32 мг/мл	64 мг/мл
25-5156	чувствительный	23,24	61,14	75,84	88,63
15-0932	МЛУ	56,06	67,88	84,88	93,81
25-4636	МЛУ	49,35	62,67	81,68	88,32
25-5313	МЛУ	38,65	46,82	79,83	94,13
25-4329	ШЛУ	46,69	55,30	86,44	95,68
25-4658	ШЛУ	35,92	45,52	68,65	87,15

характера действия экстракта аврана в концентрации 128 мг/мл на культуру клинических изолятов *M. tuberculosis* исследовали жизнеспособность микобактериальных клеток пересевом на свежую среду.

Бактерицидная активность экстракта аврана на жидкой питательной среде Миддлбрука 7Н9 в системе BACTEC MGIT960 в отношении клинических изолятов *M. tuberculosis* с различным спектром резистентности. Все клинические изоляты *M. tuberculosis*, рост которых был ингибирован при концентрации 128 мг/мл экстракта, выросли на свежей питательной среде в сроки от 19,78 до 38,90 суток, что свидетельствовало об отсутствии бактерицидной активности экстракта в указанной концентрации. Во всех образцах методом ПЦР набором «Амплицуб-РВ» были выявлены фрагменты ДНК, специфичные для микобактерий туберкулезного комплекса. При посеве выросшей культуры на кровяной агар рост культуры через сутки инкубации не визуализировался, что свидетельствовало об отсутствии в пробирке посторонней микрофлоры и, следовательно, о валидности полученных результатов.

Таким образом, экстракт аврана не оказал бактерицидного эффекта на клинические изоляты *M. tuberculosis* в максимальной тестируемой концентрации 128 мг/мл.

Заключение

Установлено, что АФС аврана лекарственного экстракта сухого (ГМР-производство АО «Фармцентр ВИЛАР») обладает бактериостатической активностью *in vitro* в отношении изолятов *M. tuberculosis*, включая изоляты с МЛУ и ШЛУ. Минимальная ингибирующая концентрация АФС аврана лекарственного экстракта сухого, при которой происходит подавление роста не менее 99,99% бактериальной популяции, составила 128 мг/мл. В более низких концентрациях АФС аврана дозозависимо приводила к частичному подавлению роста культуры *M. tuberculosis*. АФС аврана в изученных концентрациях не проявляла бактерицидной активности в отношении изолятов *M. tuberculosis*.

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (рег. No 1024030100147-3-3.2.7).

The study was carried out as a part of the State Assignment of the Russian Ministry of Health (Reg. No. 1024030100147-3-3.2.7).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

ЛИТЕРАТУРА

- ВОЗ, исполнительный комитет. Глобальная стратегия и цели в области профилактики, лечения и борьбы с туберкулезом на период после 2015 г. Женева, 134-я сессия Исполнительного комитета Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) 20-25 января 2014 г. URL: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB134/B134_12-ru.pdf [Дата обращения: 15.01.2026]
- Маслякова Г.Н., Полуконова Н.В., Морозова Т.И., Кудлай Д.А., Бучарская А.Б., Полуконова А.В., Наволокин Н.А. Флавоноиды в качестве перспективных препаратов сопровождения при длительной терапии туберкулеза с лекарственной устойчивостью // Туберкулез и болезни легких. – 2025. – Т. 103, № 4. – С. 100-108. <https://doi.org/10.58838/2075-1230-2025-103-4-100-108>.
- Наволокин Н.А., Скворцова В.В., Полуконова Н.В., Манаенкова Е.В., Панкратова Л.Э., Курчатова М.Н., Маслякова Г.Н., Дурнова Н.А. Противотуберкулезная активность экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) *in vitro* // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2015. – Т. 78, № 4. – С. 10-13.
- Полуконова Н.В., Наволокин Н.А., Дурнова Н.А., Маслякова Г.Н., Бучарская А.Б. Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью. Патент на изобретение RU 2482863 C1, 27.05.2013. Заявка № 2012105384/15 от 15.02.2012.
- Приказ № 109 МЗ РФ от 21.03.2003. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации: МЗ РФ; Москва, 2003.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, valid from 2025-01-01. Available at: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf [Accessed 27.09.2025]
- Guidance for the surveillance of drug resistance in tuberculosis, sixth edition. Geneva: World Health Organization; 2020.

REFERENCES

- World Health Organization Executive Board, 134 (2015). Global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015; 20–25 January 2014; Geneva, Switzerland. Available from: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB134/B134_12-ru.pdf. (Accessed: January 15, 2026)
- Maslyakova G.N., Polukonova N.V., Morozova T.I., Kudlay D.A., Bucharskaya A.B., Polukonova A.V., Navolokin N.A. Flavonoids as promising drugs for concomitant therapy during long-term therapy of drug-resistant tuberculosis. *Tuberculosis and Lung Diseases*, 2025, vol. 103, no. 4, pp. 100–108. (In Russ.) doi:10.58838/2075-1230-2025-103-4-100-108.
- Navolokin N.A., Skvortsova V.V., Polukonova N.V., Manaenkova E.V., Pankratova L.E., Kurchatova M.N., Maslyakova G.N., Durnova N.A. Anti-tuberculosis activity of *Gratiola officinalis* L. extract *in vitro*. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2015; Vol. 78, No. 4, P. 10–13. (In Russ.)
- Polukonova N.V., Navolokin N.A., Durnova N.A., Maslyakova G.N., Bucharskaya A.B. Method for obtaining a dry extract from plant raw materials with biological activity. Patent RU 2482863 C1, Russian Federation; published May 27, 2013. Application No. 2012105384/15, filed February 15, 2012.
- Order No. 109 of the Ministry of Health of the Russian Federation dated March 21, 2003. On improvement of tuberculosis control measures in the Russian Federation. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2003. (In Russ.)
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, valid from 2025-01-01. Available at: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_15.0_Breakpoint_Tables.pdf [Accessed: 27.09.2025]
- Guidance for the surveillance of drug resistance in tuberculosis, sixth edition. Geneva: World Health Organization; 2020.

8. Kisimba K., Kasumbwe K., Odun-Ayo F., Faya M. Flavonoids: Potential Novel Inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. // Infect Disord Drug Targets. – 2025. – Vol. 25, № 8. – P. E18715265361578 <https://doi.org/10.2174/0118715265361578250504110100>
9. Rusch-Gerdes S., Pfyffer G.E., Casal M., Chadwick M., et al. Multicenter Laboratory Validation of the BACTEC MGIT 960 Technique for Testing Susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* to Classical Second-Line Drugs and Newer Antimicrobials // J Clin Microbiol. – 2006. – № 44. – P. 688-692.
10. Siddiqi S.H., Rusch-Gerdes S. MGIT Procedure Manual for BACTEC MGIT 960 TB System, 2006. – 89 pp.
11. Vasava M.S., Bhoi M.N., Rathwa S.K., Borad M.A., Nair S.G., Patel H.D. Drug development against tuberculosis: Past, present and future // Indian J Tuberc. – 2017. – Vol. 64, № 4. – P. 252-275.
12. Villaume S.A., Fu J., N'Go I., Liang H., Lou H., Kremer L., Pan W., Vincent S.P. Natural and Synthetic Flavonoids as Potent *Mycobacterium tuberculosis* UGM Inhibitors // Chemistry. – 2017. – Vol. 23, № 43. – P. 10423-10429.
8. Kisimba K., Kasumbwe K., Odun-Ayo F., Faya M. Flavonoids: Potential Novel Inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis*. // Infect Disord Drug Targets. – 2025. – Vol. 25, № 8. – P. E18715265361578 <https://doi.org/10.2174/0118715265361578250504110100>
9. Rusch-Gerdes S., Pfyffer G.E., Casal M., Chadwick M., et al. Multicenter Laboratory Validation of the BACTEC MGIT 960 Technique for Testing Susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* to Classical Second-Line Drugs and Newer Antimicrobials // J Clin Microbiol. – 2006. – № 44. – P. 688-692.
10. Siddiqi S.H., Rusch-Gerdes S. MGIT Procedure Manual for BACTEC MGIT 960 TB System, 2006. – 89 pp.
11. Vasava M.S., Bhoi M.N., Rathwa S.K., Borad M.A., Nair S.G., Patel H.D. Drug development against tuberculosis: Past, present and future // Indian J Tuberc. – 2017. – Vol. 64, № 4. – P. 252-275.
12. Villaume S.A., Fu J., N'Go I., Liang H., Lou H., Kremer L., Pan W., Vincent S.P. Natural and Synthetic Flavonoids as Potent *Mycobacterium tuberculosis* UGM Inhibitors // Chemistry. – 2017. – Vol. 23, № 43. – P. 10423-10429.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского»
МЗ РФ
410012, Россия, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112
Тел.: + 7 (8452) 49-33-03

Маслякова Галина Никифоровна

Заведующая кафедрой патологической анатомии
E-mail: gmasyakova@yandex.ru

Морозова Татьяна Ивановна

Заведующая кафедрой туберкулеза
E-mail: ti-morozova@yandex.ru

Бучарская Алла Борисовна

Руководитель ЦКП экспериментальной онкологии
E-mail: ckp-onco@sgmu.ru

Наволокин Никита Александрович

Начальник экспериментального отдела ЦКП
экспериментальной онкологии
E-mail: ckp-onco@sgmu.ru

ФГБНУ «Центральный научно-исследовательский
институт туберкулеза»
107564, Москва, Яузская аллея, д. 2
Тел.: + 7 (499) 169-99-76

Андреевская Софья Николаевна

Ведущий научный сотрудник отдела микробиологии
E-mail: s.andreevskaya@ctri.ru

Смирнова Татьяна Геннадиевна

Заведующая отделом микробиологии
E-mail: t.smirnova@ctri.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS:

V.I. Razumovsky Saratov State Medical University,
Ministry of Health of the Russian Federation
112 Bolshaya Kazachya St., Saratov 410012, Russia
Tel.: +7 (8452) 49-33-03

Galina N. Maslyakova

Head of the Department of Pathological Anatomy
E-mail: gmasyakova@yandex.ru

Tatiana I. Morozova

Head of the Department of Tuberculosis
E-mail: ti-morozova@yandex.ru

Alla B. Bucharskaya

Head of the Experimental Oncology
E-mail: ckp-onco@sgmu.ru

Nikita A. Navolokin

Head of the Experimental Department,
Experimental Oncology
E-mail: ckp-onco@sgmu.ru

Central Tuberculosis Research Institute
2 Yauzskaya Alleya, Moscow 107564,
Russian Federation
Tel.: +7 (499) 169-99-76

Sofya N. Andreevskaya

Leading Researcher, Department of Microbiology
E-mail: s.andreevskaya@ctri.ru

Tatiana G. Smirnova

Head of the Department of Microbiology
E-mail: t.smirnova@ctri.ru

Поступила 15.04.2026

Submitted as of 15.04.2026