

СИНЕРГИЗМ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ЭКСТРАКТОВ *T. polium*

© 2021 г. Ш.А. Казарян, Л.Р. Рштуни, А.А. Оганесян

Институт биомедицины и фармации Российско-армянского университета, 0051, Ереван, ул. О. Эмина, 123, Армения

E-mail: shushanik.kazaryan@rau.am

Поступила в редакцию 30.11.2019 г.

После доработки 24.09.2020 г.

Принята к публикации 25.12.2020 г.

Появление антибиотикорезистентных штаммов бактерий приводит к необходимости нахождения новых противобактериальных средств. Благодаря своим свойствам все чаще в качестве таких агентов рассматриваются наночастицы серебра и экстракты растений. Целью данной работы было как исследование антибактериальных свойств наночастиц серебра, так и изучение их совместного действия с экстрактами дубровника беловойлочного (*Teucrium polium*). Исследование антибактериальной активности против дикого штамма *E. coli* K-12 DSM 1116 и *S. aureus* MDC 5233 показало, что наночастицы серебра и 96%-й этанольный экстракт *T. polium* обладали антибактериальными свойствами. 70%-й этанольный экстракт *T. polium* не проявлял антибактериальных свойств, но потенцировал антибактериальную активность наночастиц серебра (в 4.5 раз против *E. coli* K-12, в 2.0 раза против *S. aureus*). 96%-й этанольный экстракт увеличил антибактериальную активность против *E. coli* K-12 в 4.2 раза, а против *S. aureus* — в 6.6 раза. Таким образом, наблюдается синергизм антибактериального действия комплексов экстрактов с наночастицами, который связан с различными механизмами действия составляющих компонентов.

Ключевые слова: наночастицы серебра, антибактериальная активность, экстракт *T. polium*, флавоноиды, рутин.

DOI: 10.31857/S000630292104013X

В последние годы все более актуальным становится вопрос борьбы с резистентностью бактерий к антибиотикам. Согласно Отчету ВОЗ за 2017 г. уже существует двенадцать классов патогенов с резистентностью к антибиотикам, способных приводить к летальному исходу [1]. Среди 51 клинически испытываемого препарата на данный момент только восемь определяются ВОЗ как инновационные, остальные — модификации уже известных антибиотиков. В связи с этим возникает необходимость нахождения структурно новых веществ с антибактериальными свойствами, из-за чего все большее внимание обращают на наночастицы. Наночастицы — это структуры с одним и более значением размерности, лежащем в нанометрическом диапазоне (1–100 нм), благодаря чему они проявляют свойства, отличные от свойств макроскопических веществ.

Издавна серебро было известно своими антибактериальными свойствами и использовалось в народной медицине, после его начали использовать в фармацевтических препаратах, кремах, средствах личной гигиены и др. Благодаря этому, а также другим уникальным свойствам, все чаще в качестве антибактериального агента рассматриваются наночастицы серебра, которые широко используются для упаковки и хранения пищевых продуктов для повышения их срока годности, все чаще используют в различных областях фармацевтики и биомедицины [2].

Наночастицы серебра могут проявлять свою антибактериальную активность посредством множества механизмов, таких как: прямое взаимодействие с бактериальной клеточной стенкой; ингибирование образования биопленки; запуск врожденных, а также приобретенных иммунных реакций хозяина; генерация активных форм кислорода; индукция внутриклеточных эффектов (например, взаимодействие с ДНК и/или белками). Поскольку они не обладают одним и тем же механизмом действия стандартных антибиотиков, они могут быть применены против резистентных бактерий [3–5]. Рассматриваются также

Сокращения: ДФПГ — дифенилпикрилгидразил, ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография, АБА — антибактериальная активность, ФИК — фракционная ингибирующая концентрация, ОСФ — общее содержание флавоноидов.

другие стратегии, включая комбинированное использование растительных противомикробных препаратов с наночастицами [6]. Для этого целесообразно использовать растительные экстракты, уже содержащие активные компоненты с антимикробными свойствами. Таким растением является *T. polium*, экстракты которого, по литературным данным, содержат рутин, обладающий антибактериальными свойствами [7]. Тщательно изучена антимикробная активность рутина против штаммов различных бактерий: *E. coli*, *P. vulgaris*, *S. sonnei*, *Klebsiella sp.*, *P. auruginosa* и *B. subtilis* [8–11]. Показано, что рутин способен синергически усиливать антибактериальную активность других флавоноидов [12].

Таким образом, для того чтобы новый противомикробный препарат был эффективен в борьбе с бактериальной резистентностью, он должен действовать на нескольких клеточных уровнях, а не на один определенный уровень, как традиционные антибиотики. Очевидный перспективный подход в борьбе с резистентностью — это сочетание растительных антимикробных экстрактов с наночастицами серебра.

Целью данной работы было исследование антибактериальных свойств как наночастиц серебра (в работе использован препарат «Биоцидная добавка с наносеребром» производства ЗАО «Концерн «Наноиндустрия», Москва, Россия), так и совместное их действие с водно-этанольными экстрактами *T. polium*, а также с главными компонентами этих экстрактов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение экстрактов. Для получения экстрактов был использован аптечный *T. polium* («Антарам», Армения). Для экстрагирования использовали сухие измельченные растения в соотношении 1 г на 30 мл экстрагента, в качестве которого были использованы вода и этанол в концентрации 25, 50, 70 и 96%. Сухой растительный материал после механической гомогенизации подвергали воздействию ультразвуком при 75 Вт и времени воздействия 15 мин (ультразвуковой гомогенизатор Sonic-150W, MRC Ltd., Израиль). После 24-часовой инкубации на качалке (60–70 об/мин) экстракты центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин [13].

Определение общего содержания флавоноидов. Общее содержание флавоноидов определяли спектрофотометрически благодаря способности флавоноидов хелатировать атомы Al^{3+} и образовывать комплексы желтого цвета, детектируемые при 430 нм [14]. Для этого к 0.5 мл экстракта добавляли 0.1 мл 10%-го раствора $AlCl_3$ и инкубировали 30 мин при комнатной температуре в присутствии 0.1 М раствора ацетата натрия. Оптиче-

скую плотность образцов определяли в кювете с рабочей длиной 10 мм на UV/Vis-спектрофотометре JENWAY 6405 (Jenway Bibby Scientific Ltd., Великобритания).

Определение антирадикальной активности. Антирадикальная активность исследуемых экстрактов была измерена с помощью колориметрического метода с использованием стабильного радикала дифенилпикрилгидразила (ДФПГ) [15].

Для измерения антирадикальной активности компонентов экстрактов использовали 100 мкМ раствор ДФПГ. Аликвоты от каждого разбавления объемом 40 мкл смешивали с 360 мкл раствора ДФПГ. Полученные образцы инкубировали в течение 15 мин при температуре 30°C, далее оптическую плотность измеряли на спектрофотометре JENWAY 6405 при 517 нм. В качестве негативного контроля использовали этанол, в качестве позитивного контроля — спиртовой раствор кверцетина.

Из дозозависимых кривых антирадикальной активности экстрактов определяли значения IC_{50} , показывающие количество экстракта, необходимое для тушения 50% радикала ДФПГ в 1 мл раствора.

Анализ экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для определения мажорных компонентов из класса флавоноидов использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе Waters Alliance 2695 (Waters Corporation, США) со спектрофотометрическим и диодно-матричным детекторами и программным обеспечением обработки данных MassLynx. Разделение проводили на колонке C-18 (250 × 4 мм с размером частиц 4.5 нм) при скорости элюции 1 мл/мин со следующей градиентной элюирующей системой: деионизированная вода с 0.1 мл/л 90%-й ортофосфорной кислотой (раствор А) — ацетонитрил (раствор Б); 0–5 мин линейно раствор А доводили от 10 до 40%, далее до 50% в течение следующих 3 мин, поддерживая изократически данное соотношение растворов на протяжении последних 12 мин. В качестве стандартов использовали этанольные растворы следующих флавоноидов в концентрации 1 мг/мл: кверцетин ($R_t = 10.62$ мин), рутин ($R_t = 6.63$ мин), апигенин ($R_t = 11.57$ мин), кемпферол ($R_t = 8.71$ мин), генистеин ($R_t = 12.88$ мин), нарингенин ($R_t = 12.78$ мин) (все препараты — фирмы Sigma Aldrich, США). Детекцию проводили при 365 нм для кверцетина, рутина, апигенина и кемпферола, 290 нм — для нарингенина, 261 нм — для генистеина.

Определение антибактериальной активности. Исследование антибактериальной активности (АБА) проводили диск-диффузионным методом против штамма дикого типа *Escherichia coli* K-12 DSM 1116 и непатогенного *Staphylococcus aureus* MDC 5233 (любезно предоставлены из коллекции

Площади зон лизиса при воздействии экстрактами и наночастицами серебра на *E. coli* и *S. aureus*

Образец	Площадь зоны лизиса, кв. пиксели	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
96% Эт _{<i>T. polium</i>}	13124 ± 29	9269 ± 17
70% Эт _{<i>T. polium</i>}	—	—
Рутин	109 ± 21	123 ± 7
Наночастицы серебра	7151 ± 76	6319 ± 97
96% Эт _{<i>T. polium</i>} + наночастицы серебра	54865 ± 32	61021 ± 35
70% Эт _{<i>T. polium</i>} + наночастицы серебра	32066 ± 17	12507 ± 12
Рутин + наночастицы серебра	5714 ± 23	12417 ± 113
Ампициллин	3894 ± 45	5325 ± 24

Примечание. АБА не выявлена, достоверные отличия, $p < 0.05$.

член-корр. НАН РА А.А. Трчуняна). После 24 ч инкубации для *E. coli* и 48 ч инкубации для *S. aureus* при 37°C в CO₂-инкубаторе (MRC Ltd., Израиль) бактерии разводили стерильной дистиллированной водой до оптической плотности 0.5 (стандарт МакФарланда), что соответствует 10⁸ бактериальных клеток. Далее проводили высеив на чашки Петри с агаризованными питательными средами, в которых проделывали лунки диаметром 8 мм с внесением 0.1 мл исследуемого дисперсного раствора наночастиц серебра (0.105 мг/мл), экстракта, рутина (3.74 мкг/мл), рутина с наночастицами серебра (0.105 мг/мл) или наночастиц серебра (0.105 мг/мл) с экстрактом, стандартизованным по рутину. В качестве положительного контроля использовали раствор ампициллина (1 мг/мл), отрицательного контроля — этанол. Чашки инкубировали в термостате в течение 20–24 ч, после чего путем фотографирования фиксировали результаты эксперимента. Зону лизиса определяли в пикселях с помощью программы Image Repair 3.19 [16].

Спектральный анализ взаимодействия наночастиц серебра со спиртовым раствором рутина и экстрактами *T. polium* проводили на спектрофотометре UV/Vis-18 (MRC, Израиль).

Определение индекса фракционной ингибирующей концентрации. Индекс фракционной ингибирующей концентрации (ФИК) был рассчитан для оценки комбинированного антимикробного эффекта антибиотиков и наночастиц серебра следующим образом [17]:

$$\text{ФИК} = \frac{\text{Зона лизиса (кв. пикселей) экстракта/рутина в комбинации с наночастицами}}{\text{Зона лизиса (кв. пикселей) экстракта/рутина без наночастиц.}}$$

Существуют различия в интерпретации индекса ФИК. В настоящем исследовании антибактериальные эффекты экстракта/рутина в комбинации с наночастицами серебра оценивали по индексу ФИК как синергетические (ФИК ≥ 2), аддитивные (1 ≤ ФИК ≤ 2) или индифферентные/антагонистические (ФИК ≤ 0.5).

Статистический анализ. Для статистической обработки данных использовали *t*-тест Стьюдента, за статистическую погрешность принимали $p < 0.05$. Биологическая повторяемость опытов — четырех-шестикратная при проведении двух-трех серий в каждом опыте. В таблице и на графике (рис. 1) приведены средние арифметические значения и их стандартные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Определение общего содержания флавоноидов (ОСФ) показало, что наибольшее их количество содержалось в экстрактах *T. polium*, полученных с помощью 50, 70 и 96%-го этанола и составляло 24.900 ± 0.075 мкг/мл, 26.34 ± 0.11 мкг/мл и 22.110 ± 0.042 мкг/мл соответственно (рис. 1). С учетом выхода ОСФ более активными экстрагентами являются 50%-й и 70%-й этанол. Низкие же значения ОСФ, наблюдаемые у водных экстрактов, можно связать с гидрофобностью большинства флавоноидов, так, в водном экстракте ОСФ составляло 3,8 ± 0,08 мкг/мл, а в 25%-м этанольном экстракте *T. polium* — 9.34 ± 0.054 мкг/мл.

При исследовании антирадикальных свойств полученных экстрактов было обнаружено, что все экстракты проявляют дозозависимый характер антирадикальной активности. При этом максимальной радикалвосстанавливающей/гасящей

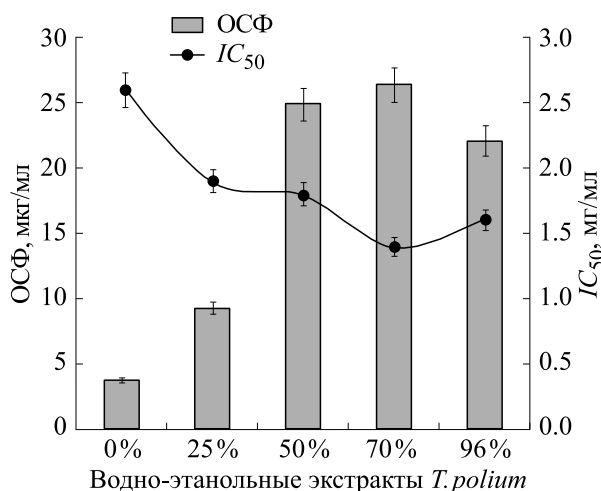


Рис. 1. Значения ОСФ и IC_{50} водно-этанольных экстрактов *T. polium*.

активностью среди всех экстрактов обладает 70%-й этанольный экстракт *T. polium* ($IC_{50} = 1.400 \pm 0.051$ мг/мл). Остальные экстракты *T. polium* по убыванию проявляемой антирадикальной активности можно выстроить в ряд: 96%-й этанольный экстракт; 50%-й этанольный экстракт; 25%-й этанольный экстракт и водный экстракт, с соответствующими значениями IC_{50} , равными 1.6 ± 0.020 мг/мл, 1.8 ± 0.026 мг/мл, 1.9 ± 0.017 мг/мл и 2.6 ± 0.032 мг/мл (рис. 1).

Для уточнения флавоноидного профиля экстрактов *T. polium* был проведен ВЭЖХ-анализ на содержание кверцетина, рутина, апигенина, кемпферола, генистеина и нарингенина. По результатам стало ясно, что использование в каче-

стве экстрагента этанола в концентрации меньшей, чем 70%, препятствует экстрагированию исследуемых нами флавоноидов. В экстрактах, полученных с помощью 96%-го и 70%-го этанола, были детектированы рутин и генистеин, в то время как в остальных экстрактах не удалось детектировать вышеупомянутые флавоноиды (рис. 2). В 96%-м этанольном экстракте *T. polium* рутин был детектирован в концентрации 2.1 мкг/мл, генистеин — 0.15 мкг/мл, а в 70%-м этанольном экстракте *T. polium* концентрация рутина составила 3.74 мкг/мл, генистеина — 0.21 мкг/мл. Следует отметить, что использование в качестве экстрагента 70%-го этанола приводит к увеличению не только ОСФ и IC_{50} , но и в 1.78 раза повышает выход рутина и в 1.4 раза — генистеина. В связи с тем, что в остальных экстрактах не удалось детектировать вышеперечисленные флавоноиды, дальнейшие исследования по определению антибактериальной активности были проведены только с 96 и 70%-ми этанольными экстрактами.

Антибактериальную активность определяли по площади зоны лизиса в кв. пикселях, результаты представлены в таблице. Как видно из табличных данных, 70%-й этанольный экстракт *T. polium* не обладал АБА ни в отношении *E. coli*, ни *S. aureus*, однако она появлялась при совместном воздействии с наночастицами серебра. При этом сами наночастицы серебра обладают антибактериальной активностью, однако в разы уступающей таковой при совместном их действии. В отличие от них, 96%-й этанольный экстракт *T. polium* сам обладал выраженной АБА как против *E. coli*, так и против *S. aureus*, при совместном же действии с наночастицами серебра данная активность увеличилась более чем в четыре раза против

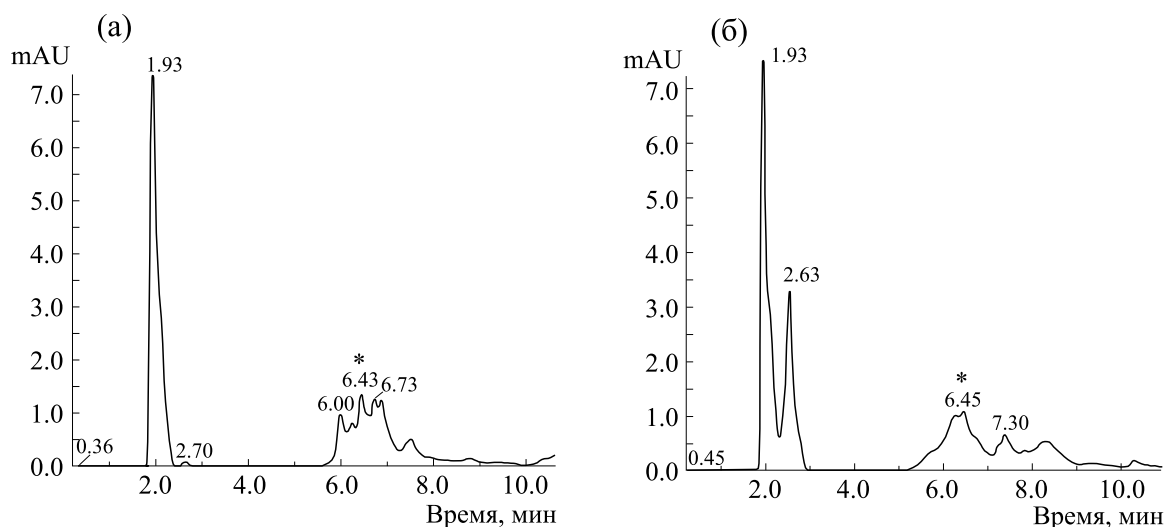


Рис. 2. ВЭЖХ-анализ содержания активных компонентов в 96%-х (а) и 70%-х (б) этанольных экстрактах *T. polium* (* — рутин).

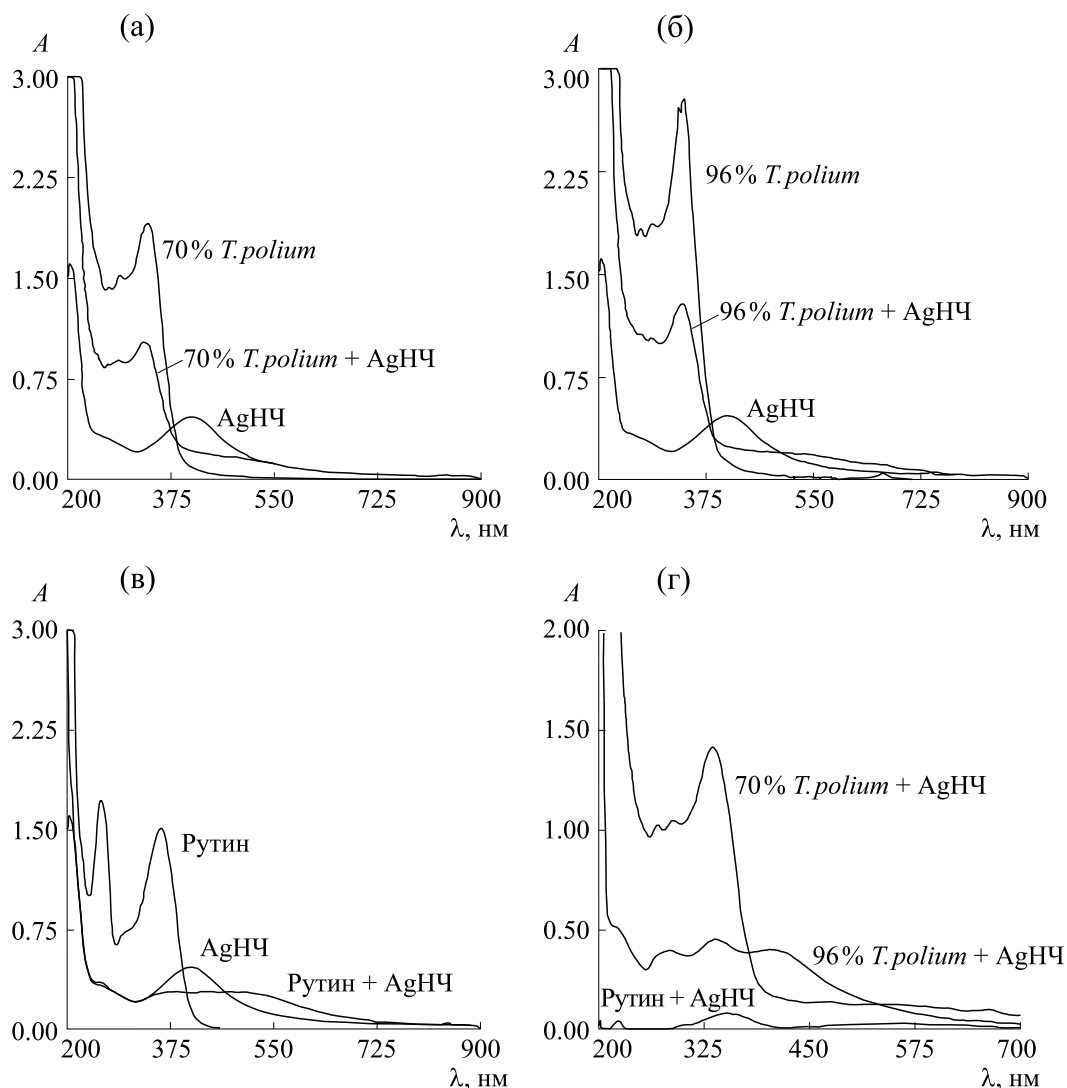


Рис. 3. Спектры поглощения экстрактов *T. polium* и рутина: (а)–(в) – при их непосредственном взаимодействии с наночастицами серебра, (г) – через 24 ч инкубации.

E. coli и более чем в шесть раз против *S. aureus*. Данный эффект не может быть связан только с содержанием рутина, так как в 70%-м этанольном экстракте его концентрация выше, однако проявляемый эффект намного меньше, чем у 96%-го этанольного экстракта, содержащего меньшее количество рутина. Следует отметить, что рутин обладает незначительной АБА, однако при совместном действии с наночастицами серебра появляется АБА, уступающая таковой для наночастиц серебра против *E. coli* и превышающая АБА против *S. aureus*. Помимо этого, при воздействии аналогичных доз «зеленых» наночастиц серебра (т.е. синтезированных с помощью экстракта *O. araratum*), полученных в нашей лаборатории, наблюдается выраженная АБА, в 13.9 раза превышающую таковую для наночастиц серебра против *E. coli* и в 23.8 раза – против *S. aureus* [18].

Для понимания механизма воздействия на рост *E. coli* и *S. aureus* был проведен спектральный анализ взаимодействия наночастиц серебра с 70 и 96%-ми этанольными экстрактами *T. polium*, а также рутином, результаты которого приведены на рис. 3. Как видно из этого рисунка, спектр наночастиц серебра нивелируется при взаимодействии с экстрактами, что характеризует наличие взаимодействия между наночастицами и компонентами экстракта. В случае взаимодействия с рутином аналогичный характер нивелирования спектра поглощения наночастиц говорит о том, что определенный вклад в данное взаимодействие оказывается именно данным компонентом экстрактов. И если в случае взаимодействия с 70%-м этанольным экстрактом *T. polium* спустя 24 ч образовавшийся комплекс остается стабильным (рис. 3г), то при взаимодействии с 96%-м

этанольным экстрактом комплекс частично распадается и происходит наложение спектров поглощения экстракта и наночастиц. При взаимодействии с рутином спектры взаимодействия спустя сутки инкубации не остались прежними, однако и не повторяли спектры отдельных компонентов инкубационной смеси, из чего можно судить об образовании новых комплексов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Хотя механизм антибактериального действия наночастиц серебра до сих пор известен не полностью [19, 20], есть доказательства того, что из структуры наночастиц могут высвобождаться ионы Ag^+ , которые, как известно, проявляют антимикробную активность при взаимодействии с тиолсодержащими белками. Главным отличием при использовании наночастиц серебра и Ag^+ как антимикробных веществ является концентрация: для достижения желаемого эффекта достаточно наномолярных концентраций наночастиц и микромолярных концентраций иона серебра.

Антибактериальная активность наночастиц серебра проявляется разносторонними механизмами действия. Наночастицы серебра способны образовывать «ямы» в клеточных стенках бактерий, также взаимодействовать с белками электрон-транспортной цепи мембран, приводя к понижению содержания АТФ и генерации активных форм кислорода. Интерес к наночастицам серебра повышается в связи с их способностью поливалентного взаимодействия как с поверхностью клеточной стенки, так и внутри цитоплазматических биополимерных цепей, приводя к изменению их конформационной энтропии. Например, цитотоксичность наночастиц серебра проявляется и в связи с взаимодействием со структурными элементами рибосом и ДНК, останавливая трансляцию, репликацию и приводя к гибели клетки [21, 22].

Наночастицы серебра обладают несколькими бактерицидными механизмами действия одновременно, что может объяснить тот факт, почему бактериальная резистентность к серебру редка, однако еще больший антимикробный эффект достигается при их совместном использовании с растительными вторичными метаболитами [23].

Полученные нами результаты показывают, что антибактериальный эффект наночастиц серебра, диспергированных в экстрактах *T. polium*, выше, чем у наночастиц. Это может объясняться тем, что сами экстракты содержат антиоксиданты и мембрано-защитные компоненты, в частности рутин. А одним из механизмов действия наночастиц серебра является ион-опосредованное действие гибели клетки с формированием свободных радикалов: активных форм кислорода и азота.

В настоящем исследовании мы оценивали синергетический эффект экстрактов *T. polium* и наночастиц серебра, вводимых в дозах меньших, чем их минимальная ингибирующая концентрация (данные не приводятся). Потенциальные синергетические антибактериальные эффекты были определены количественно по индексу функциональной ингибирующей концентрации, который был определен с использованием минимальной ингибирующей концентрации, полученных методом микродилуционного контроля [17].

Расчеты значений ФИК показали, что действие 96%-го этанольного экстракта *T. polium* в комплексе с наночастицами против роста *E. coli* и *S. aureus* имеет синергетическое действие (2.7 и 3.9 соответственно). Аналогичная картина наблюдается и при действии 70%-го этанольного экстракта *T. polium* в комплексе с наночастицами серебра со значениями ФИК 4.5 и 2.0 соответственно для *E. coli* и *S. aureus*. В отличие от вышеуказанного, комплекс рутина с наночастицами обладает лишь аддитивными свойствами. Проявляемый синергизм связан с различными механизмами действия компонентов экстрактов и наночастиц, а также их комплексов.

Антибактериальная активность наночастиц серебра неспецифична и зависит от формы, размера, заряда и т. д. Наши эксперименты показали, что наночастицы серебра могут усиливать антибактериальное действие антибиотиков ампициллина как аддитивно, так и синергетически в зависимости от дозы [24]. Важно отметить, что синергетические эффекты комплексов наночастиц серебра с экстрактами *T. polium* против роста *E. coli* и *S. aureus* можно использовать для комплексного подхода в антибиотикотерапии. Наши исследования подтвердили синергетический антимикробный эффект наночастиц серебра в комплексе с экстрактами *T. polium*, что может уменьшить дозу и токсичность этих наночастиц.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. C. Willyard, Nature **15**, 543 (2017). DOI: 10.1038/nature.2017.21550
2. V. Leso, L. Fontana, M. C. Mauriello, et al., Curr. Nanosci. **13**, 55 (2017).

3. M. K. Rai, S. D. Deshmukh, A. P. Ingle, et al., J. Appl. Microbiol. **112** (5), 841 (2012). DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x
4. P. V. Baptista, M. P. McCusker, A. Carvalho, et al., Front. Microbiol. **9**, 1441 (2018). DOI: 10.3389/fmicb.2018.01441
5. C. Bankier, R. K. Matharu, Y. K. Cheong, et al., Sci. Rep. **9**, 16074 (2019). DOI: 10.1038/s41598-019-52473-2
6. I. Górniak, R. Bartoszewski, and J. Króliczewski, Phytochem. Rev. **18**, 241 (2019). DOI: 10.1007/s11101-018-9591-z
7. O. Milošević-Djordjević, M. Radović Jakovljević, A. Marković, et al., Turk. J. Biol. **42** (2), 152 (2018). DOI: 10.3906/biy-1707-36
8. A. Ganeshpurkar and A. K. Saluja, Saudi Pharm. J. **25** (2), 149 (2017). DOI: 10.1016/j.jsps.2016.04.025
9. G. C. Chiou and X. R. Xu, J. Ocul. Pharmacol. Ther. **20** (2), 107 (2004).
10. S. Dubey, A. Ganeshpurkar, D. Bansal, et al., Chron. Young Sci. **4**, 153 (2013).
11. S. Dubey, A. Ganeshpurkar, A. Shrivastava, et al., Ind. J. Pharmacol. **45** (4), 415 (2013).
12. A. C. Abreu, A. J. McBain, and M. Simoes, Nat. Prod. Rep. **29** (9), 1007 (2012).
13. Ш. А. Казарян, Л. Р. Рштуни, М. Л. Геворкян и др., Вестн. РАУ **2**, 86 (2016).
14. G. Gasparyan, S. Tiratsuyan, Sh. Kazaryan, et al., J. Exp. Biol. Agricult. Sci. **3** (2), 174 (2015).
15. L. L. Mensor, F. S. Menezes, G. G. Leitão, et al., Phytother Res. **15** (2), 127 (2001). DOI: 10.1002/ptr.687
16. D. G. Asatryan, G. S. Sazhumyan, and H. S. Shahverdyan, Math. Problems Comput. Sci. **28**, 88 (2007).
17. L. V. da Silva, M. T. Araújo, K. R. N. dos Santos, et al., Mem. Inst. Oswaldo Cruz **106** (1), 44 (2011).
18. S. A. Ohanyan, L. R. Rshtuni, H. V. Grabski, et al., Biol. J. of Armenia **71** (3), 89 (2019).
19. G. Franci, A. Falanga, S. Galdiero, et al., Molecules **20** (5), 8856 (2015) DOI: 10.3390/molecules20058856
20. A. Abbas, S. S. Naz, and S. A. Syed, Pak. J. Agri. Sci. **56** (1), 113 (2019).
21. F. Mirzajani, A. Ghassempour, A. Aliahmadi, et al., Res. Microbiol. **162** (5), 542 (2011).
22. I. X. Yin, J. Zhang, I. S. Zhao, et al., Int. J. Nanomed. **15**, 2555-2562 (2020). DOI: 10.2147/IJN.S246764
23. N. Durán, M. Durán, M. B. de Jesus, et al., Nanomedicine **12** (3), 789 (2016) DOI: 10.1016/j.nano.2015.11.016
24. M. E. Samberg, P. E. Orndorff, and N. A. Monteiro-Riviere, Nanotoxicology **5**, 244 (2011).

Synergistic Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles and *T. polium* Extracts

Sh.A. Kazaryan, L.R. Rshtuni, and A.A. Hovhannisyan

Institute of Biomedicine and Pharmacy, Russian-Armenian University, 123 Hovsep Emin str., Yerevan, 0051, Armenia

The emergence of antibiotic-resistant bacterial strains leads to the need to find new antibacterial agents. Due to their properties, silver nanoparticles and plant extracts are more often considered as promising antibacterial agents. The aim of this work was to study the antibacterial properties of silver nanoparticles and evaluate the potential effect from the combination of silver nanoparticles and *Teucrium polium* extract. In this study, we investigated the antibacterial activity of silver nanoparticles and 96% ethanolic extract of *T. polium* against wild strains of *E. coli* K-12 DSM 1116 and *S. aureus* MDC 5233. The results showed that the plant extract and silver nanoparticles have antibacterial effects. 70% ethanol extract of *T. polium* had no antibacterial effect, but provided an increase in the antibacterial activity of silver nanoparticles (by 4.5 times against *E. coli* K-12, by 2 times against *S. aureus*). 96% ethanol extract allowed for increased antibacterial activity of silver nanoparticles against *E. coli* K-12 (by 4.2 times) and *S. aureus* (by 6.6 times). Thus, the synergistic antibacterial effects is observed in the interaction between the extract and nanoparticles that might be due to different mechanisms of action of the constituents.

Keywords: silver nanoparticles, antibacterial activity, T. polium extract, flavonoids, rutin