

Н.А. Сейдалина¹, С.Б. Ахметова¹, М.К. Смагулов², Г.А. Атажанова^{1*}

¹Медицинский университет Караганды, Казахстан;

²Карагандинский университет им. академика Е.А. Букетова, Казахстан

*Автор для корреспонденции: g-atazhanova@mail.ru

Определение антимикробной активности экстрактов из травы *Melissa officinalis* L.

Постоянный рост антибиотикоустойчивости бактерий создает необходимость для разработки антимикробных препаратов из экстрактов лекарственных растений. В статье впервые представлены результаты антимикробной активности экстрактов *Melissa officinalis* L. (мелисса лекарственная), полученных различными методами, в том числе и ультразвуковой экстракцией. Изучение антимикробной активности образцов проводилось по отношению к штаммам грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, к грамотрицательным штаммам *Escherichia coli* и к дрожжевому грибку *Candida albicans*. Выявлено, что образцы водных экстрактов мелиссы лекарственной, полученные при настаивании и при экстракции ультразвуком, обладают выраженным антимикробным действием в отношении *Staphylococcus aureus*, ультразвуковые экстракты 30- и 90 %-спиртовые экстракты и водный экстракт активны в отношении *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis* и все образцы проявили слабую активность к грамотрицательной палочковидной бактерии *Escherichia coli*. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых фитопрепаратов с выраженной антимикробной активностью.

Ключевые слова: антимикробная активность, грамположительные бактерии, дискодиффузионный метод, мелисса, ультразвуковая экстракция, *Melissa officinalis*.

Введение

Во флоре Казахстана произрастает более 1000 эфиромасличных растений [1]. Большой интерес представляют некоторые виды из семейств *Lamiaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, которые раньше не изучались, или по которым имеются только краткие сведения о химическом составе и биологических свойствах. В этом отношении интерес представляет семейство *Lamiaceae* Lindl., являющееся одним из крупнейших во флоре Казахстана. Так, на территории республики в данном семействе насчитывается 233 вида, объединенных в 45 родов [2]. Растения данного семейства, богатые эфирными маслами и полифенольными соединениями, в течение многих столетий используются для лечения бактериальных заболеваний [3–10].

Род мелисса (*Melissa* L.) относится к семейству *Lamiaceae*; наиболее ценным видом является мелисса лекарственная (*Melissa officinalis* L.). В Республике Казахстан вид не произрастает, но культивируется в предгорьях Заилийского и Джунгарского Алатау [2]. Ввиду широкого применения ее в медицине, парфюмерно-косметической и пищевой промышленности, мелиссу лекарственную также культивируют во многих странах мира. *Melissa officinalis* является фармакопейным растением в Республике Казахстан [11], официально применяется в качестве лекарственного средства. Основными видами фармакологической активности травы мелиссы лекарственной считаются седативная, противовирусная, антиоксидантная, антибактериальная, противовоспалительная [12].

Ранее были изучены антимикробные свойства эфирного масла и различных экстрактов из *Melissa officinalis*. Эфирное масло обладало выраженной антимикробной активностью против пяти патогенных бактерий человека, одного дрожжевого *Candida albicans* и двух фитопатогенных грибов [13]. Выявлена эффективная антибактериальная активность против мультирезистентного штамма *Shigella sonnei* [14, 15], а также выраженная антимикробная активность этанольного экстракта *Melissa officinalis* [16].

В настоящее время возрастает потребность в мелиссе лекарственной из-за ее биологической ценности. Исходя из сказанного выше, цель настоящей работы — оценка антимикробной активности экстрактов из травы мелиссы лекарственной, полученной разными методами.

Объекты и методы исследований

Для экстрагирования воздушно-сухого сырья *Melissa officinalis* применяют воду, этиловый спирт различной концентрации (30, 50, 70 и 96 %). Измельченную (3–5 мм) траву Melissa лекарственной (20,0 г) экстрагировали двадцатикратным количеством воды или этилового спирта методом настаивания. Для полного истощения сырья экстракцию проводили в три этапа, из которых первое и второе настаивания производили при комнатной температуре в течение двух суток, третья экстракция была термической — 1 ч при 90 °С с обратным холодильником. Полученные извлечения объединяли и упаривали под вакуумом при температуре не выше 60 °С [17].

Нами впервые для извлечения суммы экстрактивных веществ из травы Melissa лекарственной применена ультразвуковая экстракция. 20,0 г травы Melissa лекарственной помещали в емкость для экстрагирования и заливали экстрагентом — водой, смесью этиловый спирт–вода, в соотношении 1:20 об./об. Ультразвуковую экстракцию сырья проводили без замачивания на установке Ultrasonic Cleaner Sonic-3 при частоте ультразвукового излучения 40 кГц, при комнатной температуре (20–22 °С), в течение 30 мин. Затем жидкий экстракт сливали и экстракцию повторяли еще 1 раз при тех же условиях. Экстракцию также проводили 30, 50, 70 и 90-процентным этиловым спиртом.

Полученные объединенные жидкие экстракты Melissa лекарственной фильтровали через бумажный фильтр. Фильтрат жидкий экстракт Melissa лекарственной заливали в роторный испаритель и проводили упаривание экстрагента при температуре 50 °С, получили густой экстракт Melissa лекарственной. Остаточный растворитель из густого экстракта выпаривали на водяной бане при температуре 60 °С. Получены сухие ультразвуковые экстракты Melissa лекарственной, которые представляют собой густую массу темно-зеленого цвета со специфическим запахом.

Скрининг образцов на антимикробную активность проведен на штаммах грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* 19659TM и грамотрицательного штамма *Escherichia coli* ATCC 8739 и к дрожжевому грибку *Candida albicans* 10231TM дискодиффузионным методом [18]. В качестве препаратов сравнения, согласно требованиям ГФ РК, использовали стандартные — бензилпенициллин для бактерий и нистатин для дрожжевого грибка *C. albicans*. Жидкой питательной средой согласно ГФ РК являлся питательный агар [19].

Для проведения исследования готовили взвесь, содержащую стандартное количество жизнеспособных клеток бактерий, которую засеивали газон на поверхность питательной среды в чашки Петри. На стерильные диски из фильтровальной бумаги наносили 0,01 мл образца. Диски с препаратами накладывали на посев на расстоянии 2,5 см от центра чашки по кругу (на одну чашку 4 диска). Посевы инкубировали 24 ч при 36 °С. После инкубации, на фоне равномерного бактериального газона вокруг дисков образовывались зоны полного и частичного подавления роста бактерий. Учет результатов осуществляли путем измерения диаметра зон подавления роста.

Антимикробная активность образцов оценивалась по диаметру зон задержки роста тест-штаммов (мм). Диаметр зон задержки роста меньше 10 мм и сплошной рост в чашке оценивали как отсутствие антибактериальной активности, 10–15 мм — слабая активность, 15–20 мм — умеренно выраженная активность, свыше 20 мм — выраженная. Каждый образец испытывался в трех параллельных опытах [20, 21].

Результаты и их обсуждение

В таблице представлены результаты исследования антимикробной активности водных и водно-этанольных экстрактов, полученных из воздушно-сухого сырья *Melissa officinalis* методом настаивания и с применением ультразвукового воздействия.

Из приведенных в таблице данных следует, что образцы водных экстрактов Melissa лекарственной, полученные при настаивании и при экстракции ультразвуком, обладают выраженным антимикробным действием в отношении *Staphylococcus aureus*, ультразвуковые экстракты 30 и 90 % спиртовые экстракты, а также водный экстракт активны в отношении *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*. Все образцы проявили слабую активность к грамотрицательной палочковидной бактерии — кишечной палочке *Escherichia coli*. Кроме того, была выявлена слабая антимикробная активность всех образцов в отношении *Candida albicans*.

Антимикробная активность исследуемых образцов экстрактов, мм

Наименование образцов	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Водный экстракт МЛ	26,2	18,2	12,8	2,8
Водный экстракт МЛ*	26,0	20,8	10,5	3,2
30 %-ный спиртовой экстракт МЛ	19,8	21,5	13,7	2,5
30 %-ный спиртовой экстракт МЛ*	25,0	21,5	11,5	–
50 %-ный спиртовой экстракт МЛ	18,7	20,2	11,0	–
50 %-ный спиртовой экстракт МЛ*	13,5	9,0	12,0	3
70 %-ный спиртовой экстракт МЛ	18,7	17,2	12,7	5,8
70 %-ный спиртовой экстракт МЛ*	20,0	19,0	12,2	3
90 %-ный спиртовой экстракт МЛ	19,2	17,0	11,7	3,5
90 %-ный спиртовой экстракт МЛ*	23,5	23,2	9,5	5,7
Бензилпенициллин	23,7	35,7	9,0	
Нистатин				18,5

Примечание. * — экстракт, полученный в результате ультразвукового воздействия.

Стоит отметить повышение антимикробной активности вариантов экстрактов, которые были получены методом ультразвукового воздействия. Так, в варианте применения 30 %-ного спиртового экстракта зона подавления для *Staphylococcus aureus* составила 25,0 мм, тогда как в варианте использования экстракта методом настаивания данный показатель составил 19,8 мм. В варианте испытания 70 %-ного водно-спиртового экстракта, полученного при помощи ультразвукового воздействия, зона подавления составила 20,0 мм, тогда как при методе настаивания — 18,7 мм. В варианте 90 %-ного экстракта — 23,5 и 19,2 мм соответственно. Исключение составили варианты опыта с водным экстрактом и 50 %-ным водно-спиртовым экстрактом, при которых большую активность показали варианты, полученные методом настаивания. Причем 50 %-ный водно-спиртовой экстракт обладает более выраженной антимикробной активностью по сравнению со стандартным препаратом бензилпенициллином.

В отношении *Bacillus subtilis* ультразвуковые экстракты оказались эффективнее тех, что были получены методом настаивания, в вариантах испытания водного экстракта (20,8 против 18,2 мм), 70 %-ного водно-спиртового (19,0 против 17,2 мм) и 90 %-ного водно-спиртового (23,2 против 17,0 мм). Для 30 %-ного водно-спиртового экстракта зона подавления оказалась аналогичной, для 50 %-ного водно-спиртового — была ниже (9,0 против 20,2 мм). Однако ни один вариант экстракта не превышает активность стандартного препарата бензилпенициллина в отношении данного микроорганизма.

Испытание в отношении *Escherichia coli* показало, что водный и все варианты водно-спиртовых экстрактов превышают по антимикробной активности стандартный препарат бензилпенициллин. Максимальные зоны подавления наблюдались в варианте с 30- и 70 %-ным водно-спиртовым экстрактами, полученными методом настаивания.

В отношении *Candida albicans* испытания антимикробной активности полученных экстрактов не показали превышения показателей стандартного препарата нистатина.

Заключение

Использование такого инновационного метода получения биологически активных веществ из Melissa лекарственной, как ультразвуковая экстракция, является наиболее быстрым по времени, со сравнительно высоким выходом экстрактивных веществ, обладающих выраженной антимикробной активностью, а именно выявлено, что применение ультразвукового воздействия на траву Melissa лекарственной повышает ее антимикробную активность в отношении грамположительных микробов.

Было установлено, что 30 %-ный водно-спиртовой экстракт Melissa лекарственной, полученный методом ультразвуковой экстракции, превышал по антимикробной активности стандартный препарат бензилпенициллин.

Список литературы

- 1 Егеубаева Р.А. Дикорастущие эфирномасличные растения юго-востока Казахстана / Р.А. Егеубаева. — Алматы, 2002. — 241 с.
- 2 Флора Казахстана. — Т. 7. — Алма-Ата: Наука, 1964. — 497 с.
- 3 Андреева И.С. Сравнительная оценка антимикробной активности некоторых перспективных лекарственных растений / И.С. Андреева, И.Е. Лобанова, Г.И. Высочина, Н.А. Соловьянова // Растительный мир Азиатской России. — 2018. — № 1(29). — С. 91–99.
- 4 Логвиненко Л.А. Ароматические растения семейства *Lamiaceae* для фитотерапии / Л.А. Логвиненко, Л.А. Хлыпенко, Н.В. Марко // Фармация и фармакология. — 2016. — Т. 4, № 4. — С. 35–47.
- 5 Паштецкий В.С. Использование эфирных масел в медицине, ароматерапии, ветеринарии и растениеводстве (обзор) / В.С. Паштецкий, Н.В. Невкрытая // Тавр. вестн. аграр. науки. — 2013. — № 1(13). — С. 16–38.
- 6 Roldán L.P. Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the *Lamiaceae* family against pathogenic and beneficial bacteria / L.P. Roldán, G.J. Díaz, J.M. Düringer // Rev Colomb Cienc Pec. — 2010. — Vol. 23. — P. 451–461.
- 7 Carović-Stanko K. Medicinal Plants of the Family *Lamiaceae* as Functional Foods — a Review / K. Carović-Stanko, M. Petek, M. Grdiša, J. Pintar, D. Bedeković, M.H. Ćustić, Z. Satovic // Czech J. Food Sci. — 2016. — Vol. 34, Iss. 5. — P. 377–390.
- 8 Araújo S. Volatile compounds of *Lamiaceae* exhibit a synergistic antibacterial activity with streptomycin / S. Araújo, L. Alves, M. Pinto, G. Oliveira, E. Siqueira, R. Ribeiro, J. Ferreira, L. Lima // Brazilian Journal of Microbiology. — 2014. — Vol. 45, Issue 4. — P. 1341–1347.
- 9 Assis F. Antibacterial activity of *Lamiaceae* plant extracts in clinical isolates of multidrug-resistant bacteria / F. Assis, F. Siqueira, I. Goncalves, R. Lacerda, R. Nascimento, S. Araujo, J. Andrade, K. Herrera, L. Lima, J. Ferreira // Anais da Academia Brasileira de Ciências. — 2018. — Vol. 90, Iss. 2. — P. 1665–1670.
- 10 Kozowska M. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from *Lamiaceae* Family / M. Kozowska, A. Laudy, J. Przyby, M. Ziarno, E. Majewska // Acta Poloniae Pharmaceutica & Drug Resear. — 2015. — Vol. 72, Iss. 4. — P. 757–767.
- 11 Государственная фармакопея Республики Казахстан. — Алматы: Изд. дом «Жібек жолы», 2014. — Т. 3. — 872 с.
- 12 Remigius C. Biodiversity within *Melissa officinalis*: Variability of Bioactive Compounds in a Cultivated Collection / C. Remigius, L. Ulrike, F. Chlodwig // Molecules. — 2018. — Vol. 23. — P. 294. doi 10.3390/molecules23020294
- 13 Mimica-Dukic N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil / N. Mimica-Dukic, B. Bozin, M. Sokovic, N. Simin // Acta Pol. Pharm. — 2003. — Vol. 60, Iss. 6. — P. 467–470.
- 14 Weidner C. *Melissa officinalis* extract induces apoptosis and inhibits proliferation in colon cancer cells through formation of reactive oxygen species / C. Weidner, C.M. Rousseau, A. Plauth, S. Wowro, C. Fischer, H. Abdel-Aziz, S. Sauer // Phytomedicine. — 2015. — Vol. 22, Iss. 2. — P. 262–270.
- 15 Miraj S. A review of chemical components and pharmacological effects of *Melissa officinalis* L. / S. Miraj, N. Azizi, S. Kiani // Der Pharmacia Letter. — 2016. — Vol. 8, Iss. 6. — P. 229–237.
- 16 Ceyhan N. Antimicrobial activities of different extracts of eight plant species from four different family against some pathogenic microorganisms / N. Ceyhan, D. Keskin, A. Uğur // Journal of Food, Agriculture & Environment. — 2012. — Vol.10, Iss. 1. — P. 193–197.
- 17 Касымова Д.Т. Ультразвуковая экстракция как способ оптимизации технологии извлечения биологически активных веществ из растений вида *Limonium gmelinii* / Д.Т. Касымова, А.Б. Алиева, М.С. Жузеева, Г.Е. Жусупова // Изв. науч.-техн. общ. «КАХАК». — 2020. — № 2(69). — С. 59–67.
- 18 Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Медицина, 2005. — 843 с.
- 19 Государственная фармакопея Республики Казахстан. — Алматы: Изд. дом «Жібек жолы», 2008. — Т. 1. — 592 с.
- 20 Larrondo J.V. Antimicrobial activity of essences from *Labiates* / J.V. Larrondo, M. Agut, M.A. Calvo-Torras // Microbios. — 1995. — Vol. 82, No. 332. — P. 171, 172.
- 21 Болтабекова З.В. Фармакогностическое исследование по стандартизации новых лекарственных средств на основе травы Melissa лекарственной (*Melissa officinalis* L.): дис. ... канд. фармац. наук / З.В. Болтабекова. — М., 2003. — 122 с.

Н.А. Сейдалина, С.Б. Ахметова, М.К. Смагулов, Г.А. Атажанова

***Melissa officinalis* L. экстрактілердің антимикробтық белсенділігін анықтау**

Бактериялардың антибиотикалық-тұрақтылығының тұрақты өсуі дәрілік өсімдіктердің экстрактілерінен микробқақарсы препараттарды әзірлеу үшін қажеттілік туғызады. Мақалада алғаш рет әр түрлі әдістермен, соның ішінде ультрадыбыстық экстракция арқылы алынған *Melissa officinalis* L. (дәрілік Melissa) экстрактілердің антимикробтық белсенділігінің нәтижелері келтірілген. Үлгілердің антимикробтық белсенділігін зерттеу грампозитивті бактериялардың *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* штамдарына, *Escherichia coli* грамтеріс штамдарына және ашытқы саңырауқұлақтары *Candida albicans* қатысты жүргізілді. Тұндыру және ультрадыбыспен экстракциялау кезінде алынған Melissa дәрілік су экстрактілерінің үлгілері *Staphylococcus aureus* қатысты айқын микробқақарсы әсерге ие

екендігі анықталды, 30 % және 90 % ультрадыбыстық спирт экстрактілермен су экстрактісі *Staphylococcus aureus* және *Bacillus subtilis* қатысты белсенді және барлық үлгілер грамтеріс таяқша тәрізді *Escherichia coli* бактериясына әлсіз белсенділік көрсетті. Алынған деректер антимикробтық белсенділігі айқын жаңа фитопрепараттарды әзірлеу үшін пайдаланылуы мүмкін.

Кілт сөздер: антимикробтық белсенділік, грам-позитивті бактериялар, дискдиффузия әдісі, мелисса, ультрадыбыстық экстракция, *Melissa officinalis*.

N.A. Seidalina, S.B. Ahmetova, M.K. Smagulov, G.A. Atazhanova

Determination of antimicrobial activity of extracts from *Melissa officinalis* L.

The constant growth of antibiotic resistance of bacteria creates the need for the development of antimicrobial drugs from extracts of medicinal plants. For the first time, the article presents the results of antimicrobial activity of extracts of *Melissa officinalis* L. (drug melissa) obtained by various methods, including ultrasonic extraction. The antimicrobial activity of the samples was studied in relation to strains of gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, gram-negative strains *Escherichia coli* and yeast fungus *Candida albicans*. It was found that samples of aqueous extracts of drug melissa obtained by infusion and extraction by ultrasound have a pronounced antimicrobial effect on *Staphylococcus aureus*, ultrasonic extracts of 30 % — and 90 % — alcohol extracts and water extract are active on *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* and all samples showed weak activity. The obtained data can be used for development of new phytopreparations with expressed antimicrobial activity.

Keywords: antimicrobial activity, gram-positive bacteria, disk-diffusion method, lemon balm, ultrasonic extraction, *Melissa officinalis*.

References

- 1 Egeubayeva, R.A. (2002). *Dikorastushchie efirnomaslichnye rasteniia yuho-vostoka Kazakhstana [Wild essential oil plants of South-East of Kazakhstan]*. Almaty [in Russian].
- 2 *Flora Kazakhstana [Flora of Kazakhstan]*. (1964). (Vol. 7). Alma-Ata: Nauka [in Russian].
- 3 Andreeva, I.S., Lobanova, I.E., Vysochina, G.I., & Solovyaynova, N.A. (2018). Sravnitelnaia otsenka antimikrobnai aktivnosti nekotorykh perspektivnykh lekarstvennykh rastenii [Comparative assessment of antimicrobial activity of some perspective medicinal plants]. *Rastitelnyi mir Aziatskoi Rossii — Vegetative world of Asian Russia*, 1(29), 91–99 [in Russian].
- 4 Logvinenko, L.A., Hlypenko, L.A., & Marko, N.V. (2016). Aromatichekieskie rasteniia semeistva *Lamiaceae* dlia fitoterapii [Aromatic plants of family *Lamiaceae* for phytotherapy]. *Farmatsiia i farmakologhiia — Pharmacy and pharmacology*, 4(4), 35–47 [in Russian].
- 5 Pashtekij, V.S., & Nevkrytaya, N.V. (2013). Ispolzovanie efirnykh masel v meditsine, aromaterapii, veterinarii i rastenievodstve (obzor) [Use of essential oils in medicine, aromatherapy, veterinary science and crop production (overview)]. *Tavrisheskii vestnik ahrarnoi nauki — Tavria Bulletin of Agriculture Science*, 1(13), 16–38 [in Russian].
- 6 Roldán, L.P., Díaz, G.J., & Durringer, J.M. (2010). Composition and antibacterial activity of essential oils obtained from plants of the Lamiaceae family against pathogenic and beneficial bacteria. *Rev Colomb Cienc Pec.*, 23, 451–461.
- 7 Carović-Stanko, K., Petek, M., Grdiša, M., Pintar, J., Bedeković, D., Čustić, M.H., & Satovic, Z. Medicinal Plants of the Family *Lamiaceae* as Functional Foods — a Review. *Czech J. Food Sci.*, 34(5), 377–390.
- 8 Araújo, S., Alves, L., Pinto, M., Oliveira, G., Siqueira, E., Ribeiro, R., Ferreira, J., & Lima, L. (2014). Volatile compounds of *Lamiaceae* exhibit a synergistic antibacterial activity with streptomycin. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(4), 1341–1347.
- 9 Assis, F., Siqueira, F., Goncalves, I., Lacerda, R., Nascimento, R., & Araujo, S., et al. (2018). Antibacterial activity of *Lamiaceae* plant extracts in clinical isolates of multidrug-resistant bacteria. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90(2), 1665–1670.
- 10 Kozowska, M., Laudy, A., Przyby, J., Ziarno, M., & Majewska, E. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae Family. *Acta Poloniae Pharmaceutica & Drug Resear.*, 72(4), 757–767.
- 11 *Hosudarstvennaia farmakopeia Respubliki Kazakhstan [The State pharmacopeia of Republic of Kazakhstan]*. (2014). Almaty: Izdatelskii dom «Zhibek zholy» [in Russian].
- 12 Remigius, C., Ulrike, L., & Chlodwig, F. (2018). Biodiversity within *Melissa officinalis*: Variability of Bioactive Compounds in a Cultivated Collection. *Molecules*, 23, 294. doi 10.3390/molecules23020294
- 13 Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., & Simin, N. (2003). Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil. *Acta Pol. Pharm.*, 60(6), 467–470.
- 14 Weidner, C., Rousseau, C.M., Plauth, A., Wowro, S., Fischer, C., Abdel-Aziz, H. & Sauer, S. (2015). *Melissa officinalis* extract induces apoptosis and inhibits proliferation in colon cancer cells through formation of reactive oxygen species. *Phytomedicine*, 22(2), 262–270.
- 15 Miraj, S., Azizi, N., & Kiani, S. (2016). A review of chemical components and pharmacological effects of *Melissa officinalis* L. *Der Pharmacia Letter*, 8(6), 229–237.

16 Ceyhan, N., Keskin, D. & Uğur, A. (2012). Antimicrobial activities of different extracts of eight plant species from four different family against some pathogenic microorganisms. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10(1), 193–197.

17 Kasymova, D.T., Alieva, A.B., Zhuzeeva, M.S., & Zhusupova, G.E. (2020). Ultrazvukovaia ekstraktsiia kak sposob optimizatsii tekhnologii izvlecheniia biolohicheski aktivnykh veshchestv iz rastenii vida *Limonium gmelinii* [Ultrasound extraction as a method optimization of extraction technology from plant species *Limonium gmelinii*. *Izvestiia nauchno-tekhnikeskogo obshchestva «KAKHAK» — Bulletin of scientific-technical society «KAKHAK»*, 2(69), 59–67 [in Russian].

18 Habriev, R.U. (2005). *Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniiu novykh farmakolohicheskikh veshchestv* [Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow: Meditsina [in Russian].

19 *Hosudarstvennaia farmakopeia Respubliki Kazakhstan [The State pharmacopeia of Republic of Kazakhstan]*. (2008). Almaty: Izdatelskii dom «Zhibek zholy» [in Russian].

20 Larrondo, J.V., Agut, M., & Calvo-Torras, M.A. (1995). Antimicrobial activity of essences from Labiates. *Microbios*, 82(332), 171–172.

21 Boltabekova, Z.V. (2003). *Farmakognosticheskoe issledovanie postandartizatsii novykh lekarstvennykh sredstv na osnove travy melissy lekarstvennoi (Melissa officinals L.)* [Pharmacognostic study of the standardization of new drugs based on the herb of *Melissa officinals L.*]. *Candidate's thesis*. Moscow [in Russian].