

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201991056** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2019.11.29**

(22) Дата подачи заявки  
**2017.11.01**

(51) Int. Cl. *A61K 36/82* (2006.01)  
*A61K 36/84* (2006.01)  
*A61K 36/85* (2006.01)  
*A61K 36/87* (2006.01)  
*A61K 36/03* (2006.01)  
*A61K 36/14* (2006.01)  
*A61K 36/185* (2006.01)  
*A61K 36/235* (2006.01)  
*A61K 36/28* (2006.01)  
*A61K 36/45* (2006.01)  
*A61K 36/53* (2006.01)  
*A61K 36/534* (2006.01)  
*A61K 36/61* (2006.01)  
*A61K 36/708* (2006.01)  
*A61K 36/73* (2006.01)  
*A61K 36/74* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)  
*A61K 36/04* (2006.01)

---

(54) **ЭКСТРАКТ РАСТИТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ КАК АНТИМИКРОБНЫЙ И/ИЛИ  
АНТИБИОПЛЕНОЧНЫЙ АГЕНТ**

---

(31) **1660588; 16197217.9**

(32) **2016.11.02; 2016.11.04**

(33) **FR; EP**

(86) **PCT/EP2017/077956**

(87) **WO 2018/083115 2018.05.11**

(71) Заявитель:  
**АЛЬФАНОЗОС С.А.С. (FR)**

(72) Изобретатель:  
**Майер Паскаль, Брей Лор (FR)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(57) Экстракт растительной композиции, которая содержит по меньшей мере два различных высушенных растения, полезный в качестве антимикробного и/или антибиопленочного агента в лечении или профилактике микробных инфекций, вызываемых бактериями, например, такими как *Escherichia*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptococcus* или *Staphylococcus*, или грибами, например, такими как описано в данном документе. Было обнаружено, что в таком экстракте активные ингредиенты проявляют свои биологические эффекты синергетическим образом. Указанный экстракт может представлять собой активный ингредиент биологически активной добавки, нутрицевтической, фармацевтической или косметической композиции, или функционального пищевого продукта, или пищевой добавки. Способ получения указанного экстракта также описан в данном документе.

**A1**

**201991056**

**201991056**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-556146EA/019

**ЭКСТРАКТ РАСТИТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ КАК АНТИМИКРОБНЫЙ И/ИЛИ  
АНТИБИОПЛЕНОЧНЫЙ АГЕНТ**ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к экстракту растительной композиции, содержащей по меньшей мере два разных высушенных растения, используемых в качестве антимикробного и/или антибиопленочного агента. Также было обнаружено, что в таком экстракте активные ингредиенты проявляют свои биологические эффекты синергетическим образом.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Как и любой живой организм, растения содержат множество химических веществ, в том числе низкомолекулярные химические вещества, полипептиды, полисахариды, ферменты. Таким образом, растительный экстракт является рядовым примером природной смеси химических соединений.

Биологическая и терапевтическая активность многих химических соединений, полученных из растений, является секулярным знанием и описана в многочисленных рукописях (см., например, Encyclopedia of Herbal Medicine: The Definitive Home Reference Guide to 550 Key Herbs with all their Uses as Remedies for Common Ailments Hardcover - November 15, 2000, Andrew Chevallier).

Современная наука позволяет наблюдать биологические и терапевтические эффекты комбинаций химических соединений, полученных из растений, на большое количество организмов.

Например, в Scheggi (Scheggi S. et al, Pharm. Biol. 2016 Jan 5:1-11. [предварительная электронная публикация]) описано как крысиная модель позволяет проверить эффект комбинаций химических веществ, полученных из растений, против депрессии.

В Zhipeng QU (Oncotarget. 2016 Sep 1 Epub) показано, как можно идентифицировать потенциальные противораковые молекулярные механизмы состава Кушень инъекции с использованием функциональной геномики. Состав Кушень инъекции (SKI) клинически используется в Китае более 15 лет для лечения различных видов

солидных опухолей. Однако, поскольку такие препараты традиционной китайской медицины (ТКМ) представляют собой сложные смеси вторичных метаболитов растений, важно систематически исследовать их основные молекулярные механизмы. Данное исследование демонстрирует, что СКІ ингибирует пролиферацию клеток MCF-7 и индуцирует апоптоз в зависимости от дозы. Было обнаружено, что он нарушает сигналинг многих сигнальных путей, а в качестве потенциального первичного целевого пути СКІ в клетках MCF-7 был идентифицирован клеточный цикл. СКІ также может индуцировать апоптоз в клетках MCF-7 через механизм, независимый от p53. Кроме того, они идентифицировали новые lncRNA (lncRNA-длинные некодирующие РНК) и продемонстрировали, что многие из них могут быть экспрессированы как ответ на лечение СКІ.

Влияние смесей химических соединений, полученных, например, из растений, грибов или бактерий, на рост микроорганизмов, таких как бактерии и грибы, было описано много раз, например, в Venkatadri (Venkatadri B. et al., Indian J. Pharm. Sci. 2015 Nov-Dec;77(6):788-91).

Влияние комбинаций химических соединений, полученных, например, из растений, грибов или бактерий, на образование биопленок (сообществ микроорганизмов, встроенных в полимерную матрицу, прикрепленную к поверхности), также было много раз описано, например, Süntar (Süntar I. et. al., Pharm. Biol. 2016 Jun;54(6):1065-70 Epub 2015 Oct 29).

Shimizu M. et al. (Antimicrob Agents Chemother. 2001 Nov; 45 (11): 3198-201) обнаружили, что экстракт *Arctostaphylos uva-ursi* заметно уменьшал МИС (минимальные ингибирующие концентрации) бета-лактамовых антибиотиков, таких как оксациллин и цефметазол, против метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*. Эта же группа также выделила эффективное соединение и идентифицировала его как корилагин.

Другая группа (Denev P. et al., Acta Biochim. Pol. 2014;61(2):359-67. Epub 2014 Jun 18) изучала антиоксидантные, антимикробные и нейтрофил-модулирующие активности экстрактов из шести лекарственных растений - листьев ежевики (*Rubus fruticosus*), листьев черноплодной рябины (*Aronia melanocarpa*),

листьев боярышника (*Crataegus monogyna*), надземные части манжетки (*Alchemilla glabra*), надземные части таволги (*Filipendula ulmaria*) и листья малины (*Rubus idaeus*). Антимикробная активность исследуемых экстрактов против 11 патогенных микроорганизмов человека была исследована с использованием трех различных способов, и результаты данного исследования позволили сделать вывод о том, что экстракты листьев таволги и ежевики обладали наивысшим антимикробным эффектом и минимальными ингибирующими концентрациями (МИК) в отношении исследуемых микроорганизмов.

Yam T. et al. (FEMS Microbiol Lett. 1997 Jul 1;152(1):169-74) сосредоточили свои исследования на микробиологической активности цельных и фракционированных неочищенных экстрактов чая (*Camellia sinensis*) и компонентов чая. Были исследованы водные экстракты чаев (*Camellia sinensis*) различных типов и из разных источников, и было обнаружено, что они ингибируют широкий спектр патогенных бактерий, включая метициллин-устойчивый *Staphylococcus aureus*. Экстракты чая обладают бактерицидным действием на стафилококки и *Yersinia enterocolitica* при концентрациях, значительно ниже концентрации «чашки чая». Активность ограничивалась одной из четырех фракций, полученных из экстракта зеленого чая методом распределительной хроматографии. Тестирование чистых соединений чая и близкородственных химических веществ позволили предположить, что антибактериальная активность экстрактов зеленого чая объясняется содержанием в нем эпигаллокатехина, эпигаллокатехин галлата и эпикатехина галлата. В экстрактах черного чая теафлавин и его галлаты являются дополнительными антибактериально активными компонентами.

В WO 2009/031041 описана композиция, содержащая (a) антимикробное соединение, имеющее заданную химическую структурную формулу, (b) антимикробный материал, выбранный из лантиониновых бактериоцинов, экстракта чая [*Camellia sinensis*], экстракта хмеля [*Humulus lupulus* L], экстракта кожицы винограда, экстракта виноградных косточек, экстракта толокнянки обыкновенной [*Arctostaphylos uva-ursi*] и их комбинации.

В WO 99/20289 сообщается о прозрачном растительном экстракте, содержащем концентрированный растительный экстракт и жидкий наполнитель. Сообщается, что концентрированный растительный экстракт выбирают из длинного перечня экстрактов растений, причем такой перечень включает *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*. Однако в WO 99/20289 не упоминается о каком-либо конкретном терапевтическом или медицинском применении заявленного растительного раствора.

В US 2015/0056255 сообщается о продукте для применения в медицине, косметологии, в качестве красителя или в дерматологии, при этом продукт содержит слой волокнистого растительного продукта и растительный экстракт, нанесенный на слой волокнистого растительного продукта. Считается, что растительный экстракт содержит вещества из одной или более конкретных частей одного или более растений, причем растения выбирают из по меньшей мере одного длинного перечня растений.

Azanida NN (Med. Aromat. Plants, 4:3, p.1-6, 2015) опубликовал обзор, в котором приводятся описание и сравнение наиболее часто используемых способов приготовления экстрактов лекарственных растений. Авторы завершают свою статью, утверждая, что «ни один универсальный способ экстракции не является идеальным способом, и каждая процедура экстракции уникальна для растений» (см. «Выводы», строки 5-7).

Selman A. Wachsmann et al. (Bacteriology, 31, p.157-164, 1945) сообщает, что разные штаммы одного и того же вида бактерий могут сильно различаться по устойчивости к стрептомицину. Различные штаммы бактерий *Staphylococcus aureus* используются в данной публикации для проверки активности стрептомицина. Тем не менее, ни один растительный экстракт не тестируется на тех же самых штаммах, и поэтому из данной публикации не может быть получена четкая методика.

Биологические эффекты, такие как предполагаемые в предыдущих примерах, могут быть индуцированы одним химическим соединением, таким как стандартные лекарственные средства, или синергетическим действием различных химических соединений, таких как экстракты. В некоторых случаях биологический эффект почти

полностью связан с одним химическим соединением, содержащимся в экстракте. В этом случае экстракт может быть заменен очищенным активным химическим соединением.

Биологические эффекты химического соединения могут быть или из-за химических реакций (превращений) с химическими соединениями, составляющими организм, или из-за временного или постоянного связывания с химическими соединениями, в частности, с макромолекулами, составляющими организм. Такое связывание модулирует активность химических веществ организма, в частности, макромолекул, например, увеличивает или уменьшает активность фермента.

К сожалению, химические соединения никогда не имеют одинакового воздействия на организм. В частности, взаимодействия с макромолекулярными компонентами многочисленны. На самом деле хорошо известно, что любое химическое соединение, будь то природное или полученное в результате химического синтеза, будет оказывать вредное воздействие на организмы (людей, животных, растения, микрофлору и т. д.) в зависимости от дозы. В конце концов, также может наблюдаться связанный с дозой положительный или терапевтический эффект. Очевидно, что для того, чтобы химическое соединение представляло интерес в промышленности, доза, необходимая для наблюдения положительного или терапевтического эффекта, должна быть ниже, чем доза, для которой вредные эффекты становятся неприемлемыми.

Химические соединения, различающиеся по своему химическому составу или структуре, будут иметь различные аффинности (или константы связывания) с различными макромолекулами, составляющими организм, и, следовательно, различные механизмы действия, приводящие к наблюдаемым вредным, положительным и терапевтическим эффектам.

Макромолекулы, вовлеченные во вредные эффекты, и те, которые участвуют в положительных или терапевтических эффектах, во многих случаях различны. Химические соединения, различающиеся по своему химическому составу, будут в большинстве случаев иметь очень разные аффинности (или константы связывания) с многочисленными разными макромолекулами, составляющими организм.

В большинстве случаев разные химические соединения будут иметь разные аффинности (или константы связывания) с данной макромолекулой. В редких случаях разные химические соединения будут иметь сходные аффинности (или константы связывания) с одинаковыми макромолекулами или наборами макромолекул, вовлеченных в положительный или терапевтический эффект. Среди этих случаев редко происходит, чтобы эти различные химические соединения имели аффинности (или константы связывания) с макромолекулами, вовлеченными в данный вредный эффект.

Таким образом, смеси различных химических соединений могут оказывать синергетический положительный или терапевтический эффект без кумулятивного заданного вредного эффекта. Таким образом, для данного положительного или терапевтического эффекта доза, требуемая для каждого отдельного химического соединения в смеси, будет ниже, чем доза, требуемая для каждого химического соединения, рассматриваемого индивидуально для получения данного положительного или терапевтического эффекта. В тех случаях, когда вредные эффекты, вызванные каждым другим химическим соединением, различны или имеют различную макромолекулярную этиологию, каждый вредный эффект смеси будет ниже, чем вредный эффект химического соединения, рассматриваемого отдельно, потому что он используется в более низкой дозе в смеси.

Обратите внимание, что синергетическая ситуация одновременного введения уменьшенных доз различных химических соединений отличается от совместного введения различных лекарственных средств (химических соединений), имеющих различные терапевтические эффекты, вводимые в их стандартных дозах. В последней ситуации усиленные нежелательные явления из-за лекарственного взаимодействия хорошо известны. Одной из причин побочных эффектов является возможное химическое взаимодействие различных лекарств (химических соединений). В синергетической ситуации каждое химическое соединение присутствует в пониженной концентрации и, следовательно, с гораздо более низкими скоростями химических взаимодействий. В иллюстративных целях, в синергетической смеси из 10 различных химических веществ (лекарственных средств), применяемых каждое в 1/10 от

концентрации (дозы), необходимой для химического вещества (лекарственного средства), вводимого отдельно, скорость химических реакций между лекарственными средствами будет снижена в 100 раз, как это следует из универсального закона действия массы.

В связи с этим применение синергетических смесей различных химических соединений для получения определенного положительного или терапевтического эффекта с уменьшенным вредным эффектом или для получения увеличенного положительного или терапевтического эффекта с заданным уровнем различных вредных эффектов представляет интерес. Действительно, известно, что некоторые экстракты обладают синергетической активностью по отношению к выделенным химическим соединениям (см., например, Deharo E. *et al.*, Malar. J. 2011 Mar 15;10 Suppl 1:S5).

Природные экстракты, состоящие из смеси синергетических химических соединений, могут быть обнаружены, например, путем систематического тестирования многочисленных природных экстрактов отдельных растительных порошков или растительных композиций, содержащих по меньшей мере два или более различных растительных порошков.

#### ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящее время обнаружено, что экстракт растительной композиции, содержащей по меньшей мере два высушенных растения, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, полезен в качестве антимикробного и/или антибиопленочного агента в лечении или профилактике микробных инфекций, вызываемых бактериями, такими как, например, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptococcus* или *Staphylococcus*, или грибами, такими как, например, *Candida*. Также было обнаружено, что в таком экстракте активные ингредиенты проявляют свои биологические эффекты синергетическим образом.

Следовательно, один объект согласно данному изобретению представляет собой способ лечения или профилактики вышеупомянутых микробных инфекций, включающий введение эффективного количества экстракта растительной композиции,

содержащей по меньшей мере два высушенных растения, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, лиофилизата указанного экстракта или фармацевтической или ветеринарной композиции, содержащей указанный экстракт или указанный лиофилизат, субъекту, нуждающемуся в этом.

Другой объект согласно данному изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей по меньшей мере два высушенных растения, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, и по меньшей мере одно растение, выбранное из *Vitis vinifera var. tinctoria*, *Eugenia caryophyllus* и *Desmodium adscendens*.

Указанная растительная композиция может дополнительно содержать одно или более дополнительных высушенных растений, выбранных из:

*Achillea millefolium*, *Acorus calamus*, *Agrimonia eupatoria*, *Agropyrum repens*, *Alchemilla vulgaris*, *Alkanna tinctoria*, *Althaea officinalis*, *Anethum graveolens*, *Angelica archangelica*, *Arbutus unedo*, *Arnica montana*, *Artemisia pontica*, *Artemisia vulgaris*, *Asparagus officinalis*, *Asperula odorata*, *Betula pendula*, *Borrago officinalis*, *Buxus sempervirens*, *Calamintha officinalis*, *Calendula officinalis*, *Calluna vulgaris*, *Carum carvi*, *Cassia angustifolia*, *Centaurea cyanus*, *Centaureum erythraea*, *Centella asiatica*, *Cetraria islandica*, *Chamaemelum nobile*, *Chamomilla recutita*, *Chrysanthellum americanum*, *Cichorium endivia*, *Cichorium intybus*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Citrus aurantium*, *Combretum micranthum*, *Crataegus oxyacantha*, *Cuminum cyminum*, *Cupressus sempervirens*, *Curcuma zedoaria*, *Cynara scolymus*, *Cytisus scoparius*, *Elettaria cardamomum*, *Eleutherococcus senticosus*, *Epilobium parviflorum*, *Erysimum officinale*, *Eucalyptus globulus*, *Eupatorium cannabinum*, *Foeniculum vulgare*, *Fraxinus excelsior*, *Fucus vesiculosus*, *Fumaria officinalis*, *Galium odoratum*, *Gentiana lutea*, *Geranium robertianum*, *Ginkgo biloba*, *Glechoma hederacea*, *Glycyrrhiza glabra*, *Handroanthus impetiginosus*, *Harpagophytum procumbens*, *Hieracium pilosella*, *Humulus lupulus*, *Hypericum perforatum*, *Hyssopus officinalis*,

*Illicium verum, Inula helenium, Juglans regia, Juniperus communis, Lamium album, Lavandula angustifolia, Levisticum officinale, Lippia citriodora, Lotus corniculatus, Lythrum salicaria, Malva sylvestris, Marrubium vulgare, Medicago sativa, Melissa officinalis, Mentha × piperita, Morus nigra, Myrtus communis, Olea europaea, Origanum majorana, Panax ginseng, Papaver rhoeas, Parietaria officinalis, Passiflora incarnata, Petroselinum crispum, Peumus boldus, Phaseolus vulgaris, Pimpinella anisum, Plantago lanceolata, Plantago ovata, Potentilla anserina, Quercus robur, Rhamnus frangula, Rheum palmatum, Rosa centifolia, Rosmarinus officinalis, Rubia tinctorum, Rubus idaeus, Salix alba, Salvia officinalis, Sambucus nigra, Satureja montana, Silybum marianum, Solanum dulcamara, Tabebuia impetiginosa, Tanacetum vulgare, Taraxacum officinalis, Thymus serpyllum, Thymus vulgaris, Tilia tomentosa, Tilia cordata, Trigonella foenum-graecum, Tussilago farfara, Vaccinium myrtillus, Valeriana officinalis, Verbascum thapsus, Verbena officinalis, Viscum album, Zea mays и Zingiber officinale.*

Дополнительный объект согласно изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей от трех до семи высушенных растений, выбранных из *Filipendula ulmaria, Camellia sinensis, Arctostaphylos uva-ursi, Rheum palmatum, Rosmarinus officinalis, Vitis vinifera tinctoria, Desmodium adscendes, Eugenia caryophyllus* и *Eucalyptus globulus*, причем по меньшей мере два таких растения выбирают из *Filipendula ulmaria, Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, и по меньшей мере одно из таких растений выбирают из *Vitis vinifera tinctoria, Desmodium adscendes* и *Eugenia caryophyllus*.

Другой объект согласно изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей следующие высушенные растения: *Rosmarinus officinalis, Filipendula ulmaria, Camellia sinensis, Vitis vinifera tinctoria* и *Arctostaphylos uva-ursi*.

Другой объект согласно изобретению представляет собой

экстракт растительной композиции, содержащей следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria* и *Arctostaphylos uva-ursi*.

Другой объект согласно изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Eugenia caryophyllus* и *Arctostaphylos uva-ursi*.

Дополнительный объект согласно изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Eucalyptus globulus*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Mentha spicata* и *Rubia tinctorium*.

Другой объект согласно изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей по меньшей мере четырнадцать или пятнадцать высушенных растений, выбранных из следующих шестнадцати: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Satureja montana*, *Valeriana officinalis*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Fucus vesiculosus*, *Foeniculum vulgare*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Arbutus unedo*, *Eugenia caryophyllus*, *Juniperus communis*, *Combretum micranthum*, *Lippia citrodora* и *Tanacetum vulgare*.

Другой объект согласно изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Satureja montana*, *Valeriana officinalis*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Fucus vesiculosus*, *Foeniculum vulgare*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Arbutus unedo*, *Eugenia caryophyllus*, *Juniperus communis*, *Combretum micranthum* и *Lippia citrodora*.

Другой объект согласно изобретению представляет собой экстракт растительной композиции, содержащей следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Satureja montana*, *Valeriana officinalis*,

*Camellia sinensis, Vitis vinifera tinctoria, Fucus vesiculosus, Foeniculum vulgare, Arctostaphylos uva-ursi, Arbutus unedo, Eugenia caryophyllus, Juniperus communis, Combretum micranthum, Lippia citrodora* и *Tanacetum vulgare*.

Все вышеупомянутые растительные композиции также являются объектом изобретения в качестве промежуточных продуктов при получении соответствующих экстрактов.

Экстракт может представлять собой активный ингредиент биологически активной добавки, нутрицевтической, фармацевтической или косметической композиции, или функционального пищевого продукта, или пищевой добавки.

Экстракт согласно изобретению можно использовать как таковой или в высушенной, или в лиофилизированной форме.

Биологически активная пищевая добавка, нутрицевтическая, фармацевтическая, ветеринарная или косметическая композиция, или функциональный пищевой продукт, или пищевая добавка, содержащие указанный выше экстракт вместе с подходящими наполнителями, являются дополнительными объектами изобретения.

Такая биологически активная пищевая добавка, нутрицевтическая, фармацевтическая, ветеринарная или косметическая композиция, или функциональный пищевой продукт, или пищевая добавка могут быть составлены в любой форме, подходящей, например, для перорального применения, включая твердые формы, такие как порошки, гранулы, капсулы, пилюли, таблетки (нормальное или контролируемое высвобождение), жевательные резинки или жидкие формы, такие как сиропы, капли, эликсиры, растворы и суспензии в целом.

Кроме того, экстракт согласно изобретению может быть включен в другие составы, такие как кремы, мази, гели, молочные продукты, пасты, кремы на основе воды, эмульсии, сыворотки, маски, бальзамы, жидкости, спреи, суппозитории, вагинальные суппозитории, трансдермальные пластыри и зубные пасты, пародонтальные гели, ополаскиватели для полости рта.

Согласно данному изобретению выражение «растительная композиция» относится к порошку, содержащему одно или более различных измельченных высушенных растений. Порошок одного

высушенного растения может быть получен из целого растения или из его конкретной части, например, цветков, почек, плодов, стеблей, листьев, семян, корней или другого.

Согласно изобретению экстракт можно получить путем простой инкубации растительной композиции с растворителем для экстракции (с добавлением сахара или без него) при комнатной температуре.

Подходящими растворителями для экстракции согласно изобретению являются вода и все неводные растворители, разрешенные для использования при производстве пищевых продуктов и пищевых ингредиентов. Например, согласно Директиве 2009/32/ЕС, перечень таких неводных растворителей включает пропан, бутан, этилацетат, этанол, диоксид углерода, ацетон, закись азота. Согласно конкретным вариантам осуществления изобретения растворитель для экстракции выбирают из воды, этанола, этилацетата и любой их смеси.

Согласно другому альтернативному варианту осуществления экстракт может быть получен путем инкубации растительной композиции с растворителем для экстракции (с добавлением сахара или без добавления сахара) и последующего нагревания, с или без центрифугирования и фильтрации.

В соответствии с альтернативным вариантом осуществления водный экстракт может быть получен путем инкубации растительной композиции с водой (с добавлением сахара или без добавления сахара) и последующего нагревания (например, путем нагревания полученного жидкого препарата при температуре в диапазоне от 60°C до 134 °C, предпочтительно от 119° до 121 °C, в течение периода времени от 5 до 60 минут, предпочтительно от 20 до 30 минут).

Под термином «сахар» мы в данном документе подразумеваем сахар фармацевтической или пищевой степени чистоты, такой как, например, декстроза, лактоза, безводная лактоза, маннит, сорбит, мальтоза, галактоза или сахароза.

Согласно конкретному варианту осуществления изобретения такой сахар представляет собой сахарозу.

Указанный сахар можно использовать в концентрациях от 1 до 100 г/л, необязательно от 50 до 75 г/л.

Под термином «биологически активная пищевая добавка» в данном документе подразумевается пищевой продукт, предназначенный для дополнения обычной диеты и являющийся концентрированным источником питательных веществ, таких как витамины и минеральные вещества или другие вещества с питательным или физиологическим эффектом, в форме единичной дозы (см. также Директиву 2002/46/ЕС от 10 июня 2002 г.

Выражение «функциональный пищевой продукт» означает включение продуктов, характеризующихся дополнительными эффектами из-за присутствия компонентов (обычно не питательных веществ), присутствующих или добавляемых естественным путем, которые более или менее избирательно взаимодействуют с одной или более физиологическими функциями организма (биомодуляция), что приводит к положительному эффекту в отношении поддержания здоровья и/или профилактики заболеваний. Пищу можно считать «функциональной», если в достаточной степени продемонстрировано ее благотворное влияние на одну или более функций организма в дополнение к адекватному действию питательных веществ, таким образом, чтобы иметь отношение к состоянию здоровья и самочувствия, или к снижению риска заболевания. Полезные эффекты могут включать как поддержание состояния здоровья или самочувствия, так и/или снижение риска патологического процесса или заболевания (см. AT Diplock et al: Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus Document, British Journal of Nutrition 1999, 81 (Suppl. 1), S1-S27).

Согласно данному изобретению под выражением «нутрицевтическая композиция» подразумевается продукт, который не только дополняет диету, но также должен способствовать профилактике и/или лечению заболеваний и/или расстройств. Это выражение было придумано в 1989 году Стивенем Л. ДеФеличе (MD, основателем и председателем Фонда инноваций в медицине (FIM)), объединившим понятия «питание» и «фармацевтический».

Под термином «вспомогательное вещество» в данном документе подразумевается использование обычных вспомогательных веществ, то есть инертных соединений, по отношению к активному ингредиенту композиции.

Вспомогательные вещества могут быть разделены на различные функциональные классификации в зависимости от роли, которую они призваны играть в получаемом в результате составе, например, в твердых лекарственных формах они могут действовать как разбавители (например, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза), разрыхлители (например, крахмалгликолят натрия, кроскарбоксиметилцеллюлоза натрия), связующие вещества (например, PVP, НРМС), смазывающие вещества (например, стеарат магния), скользящие вещества (например, коллоидный SiO<sub>2</sub>) или ароматизаторы (например, мята перечная, лимонное масло). В жидких лекарственных формах они могут действовать как растворители, соразтворители или солюбилизаторы (например, пропиленгликоль, глицерин, этанол, сорбит, декстроза), буферные агенты (например, фосфат натрия), противомикробные агенты (например, сорбат калия), смачивающие агенты (например, полисорбаты или Твин), противовспенивающие агенты (например, полидиметилсилоксан-диоксид кремния), загустители (например, метилцеллюлоза или гидроксипропилцеллюлоза) или подсластители (например, сорбит, ацесульфам-К).

Как уже было сказано, экстракт согласно изобретению представляет собой антимикробный и/или антибиопленочный агент, и его преимущественно используют для лечения, профилактики и/или диагностики микробных инфекций у людей и животных.

Таким образом, другим объектом изобретения является применение экстракта согласно изобретению в изготовлении лекарственного средства для лечения, профилактики или диагностики микробных инфекций. Такое лекарственное средство может быть полезным для людей и животных.

Согласно данному изобретению выражения «лечение» или «лечить» предназначены для действий, направленных на излечение, смягчение симптомов или задержку прогрессирования заболевания или патологического состояния.

Выражения «предотвращение» или «профилактика» предназначены для обозначения действий, направленных на минимизацию частоты возникновения или последствий заболевания, или патологического состояния. Например, в случае микробных инфекций профилактика, в

частности, в данном документе означает предотвращение адгезии и колонизации патогенных микроорганизмов на клетках, тканях и органах.

Выражения «диагноз» или «диагностирование» предназначены для обозначения действий, предназначенных для определения ряда физиологических параметров с целью оценки наличия и степени определенного заболевания или патологического состояния.

Выражение «антимикробный агент» в данном документе будет использоваться для обозначения агента, который способен ингибировать рост клеток микроорганизмов. Если микробные клетки представляют собой патогенные микробные клетки, противомикробный агент можно использовать в качестве активного ингредиента фармацевтической или ветеринарной композиции для лечения микробных инфекций у людей или животных.

Выражение «антибиопленочный агент» в данном документе будет использоваться для обозначения агента, который способен ингибировать образование биопленки микробными клетками и/или облегчать дисперсию ранее сформированных биопленок. В отличие от обычных антимикробных агентов, антибиопленочный агент не оказывает непосредственного влияния на выживаемость микроорганизмов, и, следовательно, ожидается, что резистентность к этим агентам не возникнет так легко.

В соответствии с данным изобретением термин «синергетический» предназначен для обозначения биологического эффекта или активности (в данном случае антимикробной или антибиопленочной), представленных экстрактом растительной композиции согласно изобретению (т.е. содержащей по меньшей мере два высушенных растения, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*), превышающих сумму эффектов или активности экстрактов соответствующих отдельных высушенных растений.

Такой большой биологический эффект или активность могут быть проиллюстрированы, например, с точки зрения ингибирования роста планктона (антимикробная активность), с точки зрения ингибирования образования биопленки (антибиопленочная активность) или с точки зрения количества штаммов, с помощью

которых можно определить одну или обе эти активности.

Согласно конкретному варианту осуществления изобретения микробные инфекции вызваны бактериями, такими как, например, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Enteritidis*, *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Streptococcus pyogenes*, или грибами, такими как, например, *Candida albicans*.

Согласно другому конкретному варианту осуществления изобретения микробные инфекции вызваны *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* или *Staphylococcus pseudintermedius*.

*Staphylococcus aureus*, комменсальная грамположительная бактерия, является основным патогеном, который может вызывать самые разные заболевания у человека - от кожных инфекций и инфекций мягких тканей до тяжелой септицемии, токсического шока или пневмонии. *Staphylococcus aureus* является основной причиной нозокомиальных инфекций и многие нозокомиальные штаммы *Staphylococcus aureus* приобрели резистентность к антибиотикам, особенно к метициллину. Пока нет доступных вакцин, но предпринимаются значительные усилия для разработки активной и пассивной иммунотерапии против различных мишеней *Staphylococcus aureus*.

Чтобы оценить такую биологическую активность для экстракта согласно изобретению и для сравнения образцов, было использовано много разных штаммов, и они будут упомянуты в разделе «Примеры».

В частности, следующие бактериальные штаммы были использованы для тестирования как антимикробной, так и антибиопленочной активности экстрактов согласно изобретению.

ATCC 25923, также известный как Seattle 1945, представляет собой штамм *Staphylococcus aureus*, широко используемый в научных исследованиях (он цитируется в 627 публикациях по состоянию на октябрь 2016 года (см. NIH-NCBI-Pubmed)). Его свойства антибиотикорезистентности были тщательно охарактеризованы (см.,

например, Reimer L.G. et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* 1981 Jun;19(6):1050-5).

ATCC 29213 также представляет собой штамм *Staphylococcus aureus*, широко используемый в научных исследованиях (цитируется в 327 публикациях по состоянию на октябрь 2016 года (см. NIH-NCBI-Pubmed)). Он использовался в исследованиях биопленки (см., например, Ceri H. et al., *J. Clin. Microbiol.* 1999 Jun;37(6):1771-6).

ATCC 1228 представляет собой штамм *Staphylococcus epidermidis* (цитируется в 101 публикации по состоянию на октябрь 2016 г. (см. NIH-NCBI-Pubmed)). Свод федеральных нормативных актов (FDA) определяет такой штамм как предпочтительный организм для анализа на неомоцин (см. также Robertson J.H. et al., *Appl. Microbiol.* 1971 Dec;22(6):1164-5).

ATCC 43300 представляет собой штамм *Staphylococcus aureus*, выделенный из клинического исследования (цитируется в 81 публикации по состоянию на октябрь 2016 г. (см. NIH-NCBI-Pubmed), включая Lubenko et al., *J. Antimicrob. Chemother.* 2008 Nov;62(5):1065-9).

Штамм *Staphylococcus aureus* Newman был выделен в 1952 году от инфекции человека и широко использовался на животных моделях стафилококковых инфекций из-за его фенотипа с высокой вирулентностью (см. Vaba T. et al., *Journal of bacteriology*, 190: 300-310 (2008)). В отличие от нозокомиального MRSA (метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus*) *Staphylococcus aureus* Newman обладает лишь небольшим количеством инсерционных последовательностей (IS) и не имеет известных детерминант резистентности к антибиотикам.

Другие штаммы, используемые в примерах, также широко используются в научных исследованиях или в промышленности для контроля качества (QC). Большинство из них также резистентны к метициллину.

В качестве ссылки относительно ATCC 33591 см. Reyes N. et al., *J. Antimicrob. Chemother.* 2006 Aug;58(2):462-5, Epub 2006 May 30. В качестве ссылки относительно ATCC 33592 см. Тека А. et al., *BMC Complement Altern Med.* 2015 Aug 18;15:286. В качестве

ссылки относительно NCTC 12493 см. Carey B.E. et al., J. Antimicrob. Chemother. 2006 Aug;58(2):455-7, Epub 2006 Jun 20. В качестве ссылки относительно ATCC 700698 см. Kirker K.R. et al., Int. J. Antimicrob Agents, 2015 Oct;46(4):451-5, Epub 2015 Jul 9. В качестве ссылки относительно ATCC 700699 см. Sy C.L. et al., J. Clin. Microbiol. 2016 Mar;54(3):565-8, Epub 2015 Dec 16. В качестве ссылки относительно ATCC 9144 см. Carson C.F. et al., Antimicrob. Agents Chemother. 2002 Jun; 46 (6): 1914-20. В качестве ссылки относительно ATCC BAA-44 см. Monecke S. et al., PLoS One. 2011 Apr 6;6(4):e17936. В качестве ссылки относительно ATCC 14990 см. Bernardo T.H. et al., Scientific World Journal. 2015;751791, Epub 2015 Jun 3). В качестве ссылки относительно ATCC 49444, см. Ramsey KJ et al., J Food Prot. (2010). В качестве ссылки относительно ATCC 60193 см. Petrikaite V et al., Medicina (Kaunas). 2007;43(8):657-63. В качестве ссылки относительно ATCC 11775 см. Usman H et al., Afr J Tradit Complement Altern Med. 2007 Jun 10;4(4):488-94. В качестве ссылки относительно ATCC 13883 см. Supardy NA et al., J Microbiol Biotechnol. 2012 Jun;22(6):872-81. В качестве ссылки относительно ATCC 33090, см. Le Marc Y et al., Int J Food Microbiol. 2002 Mar;73(2-3):219-37. В качестве ссылки относительно ATCC 19115 см. Vodnar DC., Chem Cent J. 2012 Jul 28;6(1):74. doi: 10.1186/1752-153X-6-74. В качестве ссылки относительно ATCC 27853 см. Reimer LG et al., Antimicrob Agents Chemother. 1981 Jun;19(6):1050-5. В качестве ссылки относительно ATCC 13076 см. Fioretto F et al., Braz J Med Biol Res. 2005 Aug;38(8):1259-65. Epub 2005 Jul 30. В качестве ссылки относительно ATCC 13311 см. Leguérinel I et al., Int J Food Microbiol. 2007 May 1;116(1):88-95. Epub 2007 Jan 13. В качестве ссылки относительно ATCC 27336 см. Chen S et al., Appl Environ Microbiol. 2013 Jul;79(13):4015-23. doi: 10.1128/AEM.00704-13. Epub 2013 Apr 19. В качестве ссылки относительно ATCC 43079 см. Farrow JA and Collins MD., Syst. Appl. Microbiol. 5: 483-493, 1984. В качестве ссылки относительно ATCC BAA-1323 см. Svensson Mikael D et al., Microbiology 148: 3933-3945, 2002.

Пищевая активная пищевая добавка, нутрицевтическая,

фармацевтическая или косметическая композиция согласно изобретению могут быть подходящим образом составлены для различных путей введения. Такие способы введения включают: аурикулярное, буккальное, кожное, дентальное, назальное, офтальмологическое, пероральное, орофарингеальное, ректальное, респираторное (ингаляция), сублингвальное, местное или вагинальное.

Обычно композиции, содержащие экстракты согласно изобретению, вводят в «терапевтически эффективном количестве».

Для целей данного описания и последующей формулы изобретения термин «содержащий» также включает термины «который по существу состоит из» или «который состоит из».

Количество фактически вводимой композиции, как правило, определяется врачом с учетом соответствующих обстоятельств, включая патологическое состояние, подлежащее лечению, выбранный путь введения, фактическую введенную композицию, возраст, массу тела и реакцию отдельного пациента, тяжести симптомов субъекта и тому подобное. Для любой композиции терапевтически эффективная доза может быть первоначально оценена или в анализах на клеточных культурах, или на животных моделях, обычно на мышах, крысах, морских свинках, кроликах, собаках или свиньях.

Животную модель также можно использовать для определения подходящего диапазона концентраций и пути введения. Такая информация может затем использоваться для определения полезных доз и путей введения людям. При расчете эквивалентной человеческой дозы (HED) рекомендуется использовать таблицу для пересчета, приведенную в документе «Руководство для промышленности и экспертов» (2005, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США, Роквилл, Мэриленд, США).

В соответствии с изобретением доза экстракта для введения человеку может регулироваться в зависимости от растительной композиции, используемой для ее приготовления, и, следовательно, от количества измельченных отдельных высушенных растений, присутствующих в растительной композиции. Обычно для приготовления конечного экстракта используют от 0,001 до 500 г

каждого измельченного высушенного растения, необязательно от 0,01 до 100 г. Такой экстракт может быть использован как таковой или в лиофилизированной, высушенной, или в сублимированной форме в конечной композиции для применения в медицинских или ветеринарных целях, или он может быть дополнительно разбавлен.

Точная эффективная доза для человека будет зависеть от степени тяжести заболевания или патологического состояния, общего состояния здоровья субъекта, возраста, массы и пола субъекта, диеты, времени и частоты введения, других одновременных методов лечения, чувствительности реакции и толерантности/ответа на терапию. Это количество может быть определено путем стандартного экспериментирования и находится на усмотрении врача.

Доза, используемое для лечения, может быть одной или более дозами.

Другой объект изобретения представляет собой способ получения экстракта согласно изобретению. Такой процесс схематично содержит следующие этапы:

a) нарезания или измельчения отдельно или в смеси по меньшей мере двух отдельных высушенных растений для получения соответствующих растительных порошков;

b) смешивания по меньшей мере двух различных растительных порошков для получения растительной композиции;

c) добавления экстракционного растворителя к указанной растительной композиции для получения соответствующего жидкого препарата (или экстракта);

d) инкубации указанного жидкого препарата при комнатной температуре в течение периода времени от 5 до 15 минут; необязательно,

e) нагревания указанного жидкого препарата при температуре от 60 °C до 134 °C в течение от 5 до 60 минут; необязательно,

f) центрифугирования, сбора супернатанта и фильтрации собранного супернатанта; и, необязательно,

g) концентрирования и/или сушки или лиофилизации жидкого препарата, полученного на этап e) или f).

Согласно данной заявке слово «лиофилизат» будет относиться как к лиофилизированным (дегидратированным), так и к высушенным экстрактам согласно изобретению.

Одиночные высушенные растения являются коммерческими продуктами, которые могут быть приобретены как часть сборов высушенных растений в аптеках или магазинах лекарственных растений. Перечень сборов высушенных растений доступны в каждой аптеке выбранного магазина трав, и высушенные растения, доступные в таких сборах, могут варьироваться от страны к стране.

Например, Бельгия, Франция и Италия в 2012 году приняли решение объединить усилия для разработки общего перечня растений, использование которых может быть разрешено при условии, что производители отвечают требованиям качества европейского законодательства (Регламент ЕС 852/2004). Благодаря кропотливой работе трех признанных экспертов (Robert Anton, Luke Delmulle и Mauro Serafini) в результате проекта был составлен перечень из 1029 растений и 11 грибов (см. перечень BelFrIt на

[http://www.economie.gouv.fr/files/files/directions\\_services/dgccrf/imgs/breve/2014/documents/harmonized\\_list\\_Section\\_A.pdf](http://www.economie.gouv.fr/files/files/directions_services/dgccrf/imgs/breve/2014/documents/harmonized_list_Section_A.pdf)  
)

Теперь изобретение будет описано со ссылкой на следующие неограничивающие примеры.

#### ПРИМЕРЫ

##### Перечень растений, используемых в Примерах

Растения и части растений в следующем перечне были использованы в различных примерах. Для краткости каждое растение идентифицируется при помощи шифра, используемого в примерах. Масса, соответствующая 200 мкл (объем калиброванной ложки) растительного порошка, также указана (Таблица 0-1) Высушенные растения фармацевтической степени чистоты от PA00 до PB12 были получены от «Pharmacie Fontgiève» (Клермон-Ферран, Франция), а высушенные растения фармацевтической степени чистоты от PB13 до PD08 были получены от «Pharmacie St Herem» (Клермон-Ферран, Франция). В тех случаях, когда указано в Примере, растения также получали от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция) или от

Siccararam (Обья, Франция).

Таблица 0-1: Перечень растений с соответствующими шифрами и массами сухих порошков для одной калиброванной ложки

| Шифр растения | Ботаническое название                | Используемая часть | Масса (г) | Шифр растения | Ботаническое название             | Используемая часть | Масса (г) |
|---------------|--------------------------------------|--------------------|-----------|---------------|-----------------------------------|--------------------|-----------|
| PA00          | <i>Sambucus nigra</i>                | цветок             | 0,0684    | PB32          | <i>Tabebuia impetiginosa</i>      | корка              | 0,0775    |
| PA01          | <i>Plantago afra</i>                 | семя               | 0,1357    | PB33          | <i>Glechoma hederacea</i>         | надземная часть    | 0,0601    |
| PA02          | <i>Equisetum arvense</i>             | надземная часть    | 0,0578    | PB35          | <i>Cetraria islandica</i>         | надземная часть    | 0,0776    |
| PA05          | <i>Aloysia citrodora</i>             | лист               | 0,0712    | PB36          | <i>Rubus idaeus</i>               | лист               | 0,0553    |
| PA06          | <i>Glycyrrhiza glabra</i>            | корень             | 0,0774    | PB38          | <i>Fraxinus excelsior</i>         | лист               | 0,1241    |
| PA07          | <i>Camellia sinensis</i>             | лист               | 0,07      | PB39          | <i>Lavandula angustifolia</i>     | цветок             | 0,0207    |
| PA08          | <i>Solidago virgaurea</i>            | надземная часть    | 0,0394    | PB41          | <i>Cassia angustifolia</i>        | плод               | 0,0568    |
| PA10          | <i>Taraxacum officinale</i>          | корень             | 0,0585    | PB42          | <i>Fragaria vesca</i>             | лист               | 0,0692    |
| PA11          | <i>Rheum palmatum</i>                | корень и корневище | 0,1016    | PB45          | <i>Aspalathus linearis</i>        | лист               | 0,0684    |
| PA12          | <i>Rosmarinus officinalis</i>        | лист               | 0,0545    | PB46          | <i>Trigonella foenum-graecum</i>  | семя               | 0,1342    |
| PA13          | <i>Filipendula ulmaria</i>           | цветок             | 0,095     | PB47          | <i>Foeniculum vulgare</i>         | плод               | 0,0818    |
| PA14          | <i>Satureja montana</i>              | лист               | 0,0619    | PB48          | <i>Alkanna tinctoria</i>          | корень             | 0,0606    |
| PA15          | <i>Calendula officinalis</i>         | лепесток           | 0,0383    | PB49          | <i>Mentha spicata</i>             | лист               | 0,0694    |
| PA16          | <i>Salvia officinalis</i>            | лист               | 0,0415    | PB50          | <i>Eupatorium cannabinum</i>      | надземная часть    | 0,0529    |
| PA17          | <i>Passiflora incarnata</i>          | надземная часть    | 0,0423    | PB51          | <i>Echinacea purpurea</i>         | корень             | 0,0915    |
| PA18          | <i>Plantago lanceolata</i>           | лист               | 0,0626    | PB55          | <i>Eucalyptus globulus</i>        | лист               | 0,0666    |
| PA19          | <i>Tussilago farfara</i>             | соцветие           | 0,0494    | PB57          | <i>Rosaxcentifolia</i>            | бутон              | 0,0819    |
| PA20          | <i>Valeriana officinalis</i>         | корень             | 0,1142    | PB58          | <i>Solanum dulcamara</i>          | стебель            | 0,0709    |
| PA21          | <i>Camellia sinensis</i>             | лист               | 0,135     | PB60          | <i>Arbutus unedo</i>              | лист               | 0,0891    |
| PA22          | <i>Vitis vinifera var. tinctoria</i> | лист               | 0,0762    | PB61          | <i>Borrago officinalis</i>        | надземная часть    | 0,0754    |
| PA23          | <i>Thymus vulgaris</i>               | лист               | 0,0373    | PB76          | <i>Eleutherococcus senticosus</i> | корень             | 0,0571    |
| PA24          | <i>Cassia angustifolia</i>           | листочек           | 0,0648    | PB77          | <i>Cupressus sempervirens</i>     | орех               | 0,0862    |
| PA25          | <i>Tilia cordata</i>                 | заболонь           | 0,0391    | PB78          | <i>Curcuma longa</i>              | корень             | 0,0946    |

|      |                                     |                      |            |      |                                      |                 |            |
|------|-------------------------------------|----------------------|------------|------|--------------------------------------|-----------------|------------|
| PA26 | <i>Thymus serpyllum</i>             | надземная часть      | 0,04<br>42 | PB79 | <i>Cuminum cyminum</i>               | плод            | 0,11<br>09 |
| PA27 | <i>Tilia tomentosa</i>              | прицветник           | 0,07<br>75 | PB81 | <i>Salvia officinalis</i>            | лист            | 0,05<br>36 |
| PA28 | <i>Rubus idaeus</i>                 | лист                 | 0,04<br>63 | PB82 | <i>Salix alba</i>                    | корка           | 0,05<br>22 |
| PA29 | <i>Fucus vesiculosus</i>            | листовая пластинка   | 0,17<br>02 | PB83 | <i>Saponaria officinalis</i>         | надземная часть | 0,06<br>02 |
| PA30 | <i>Lavandula angustifolia</i>       | цветок               | 0,02<br>16 | PB85 | <i>Lythrum salicaria</i>             | надземная часть | 0,05<br>81 |
| PA31 | <i>Trigonella foenum-graecum</i>    | семя                 | 0,10<br>43 | PB86 | <i>Citrus limon (L) Burn.f.</i>      | корка           | 0,09<br>8  |
| PA32 | <i>Lotus corniculatus</i>           | надземная часть      | 0,04<br>97 | PB88 | <i>Centella asiatica</i>             | надземная часть | 0,06<br>85 |
| PA33 | <i>Handroanthus impetiginosus</i>   | корка                | 0,08<br>14 | PB92 | <i>Plantago ovata</i>                | семя            | 0,12<br>66 |
| PA34 | <i>Viscum album</i>                 | лист                 | 0,07<br>83 | PB97 | <i>Agropyrum repens</i>              | корневище       | 0,05<br>55 |
| PA35 | <i>Fumaria officinalis</i>          | верхняя часть побега | 0,06<br>61 | PB98 | <i>Cichorium intybus</i>             | лист            | 0,07<br>15 |
| PA36 | <i>Humulus lupulus</i>              | плод                 | 0,03<br>07 | PB99 | <i>Potentilla anserina</i>           | лист            | 0,02<br>98 |
| PA37 | <i>Fraxinus excelsior</i>           | лист                 | 0,06<br>47 | PC01 | <i>Quercus robur</i>                 | корка           | 0,06       |
| PA38 | <i>Cytisus scorpius</i>             | цветок               | 0,02<br>53 | PC02 | <i>Chelidonium majus</i>             | надземная часть | 0,06<br>08 |
| PA39 | <i>Foeniculum vulgare</i>           | плод                 | 0,08<br>1  | PC04 | <i>Prunus cerasus</i>                | плодоножка      | 0,01<br>99 |
| PA40 | <i>Origanum majorana</i>            | лист                 | 0,03<br>45 | PC06 | <i>Asparagus officinalis</i>         | корень          | 0,08<br>12 |
| PA41 | <i>Citrus aurantium var. dulcis</i> | лист                 | 0,05<br>74 | PC08 | <i>Medicago sativa</i>               | семя            | 0,11<br>3  |
| PA44 | <i>Hyssopus officinalis</i>         | верхняя часть побега | 0,06<br>77 | PC11 | <i>Juglans regia</i>                 | лист            | 0,06<br>41 |
| PA45 | <i>Mentha piperita</i> ×            | лист                 | 0,07       | PC12 | <i>Olea europaea</i>                 | лист            | 0,05<br>61 |
| PA46 | <i>Melissa officinalis</i>          | лист                 | 0,07<br>47 | PC14 | <i>Myrtus communis</i>               | лист            | 0,07<br>16 |
| PA47 | <i>Fragaria vesca</i>               | целое растение       | 0,06<br>92 | PC15 | <i>Trifolium rubens</i>              | цветок          | 0,04<br>84 |
| PA48 | <i>Phaseolus vulgaris</i>           | плод                 | 0,06<br>08 | PC17 | <i>Curcuma zedoaria</i>              | корневище       | 0,07<br>7  |
| PA51 | <i>Marrubium vulgare</i>            | надземная часть      | 0,04<br>57 | PC19 | <i>Vitis vinifera var. tinctoria</i> | лист            | 0,06<br>95 |
| PA52 | <i>Malva sylvestris</i>             | цветок               | 0,03<br>55 | PC20 | <i>Eugenia caryophyllus</i>          | гвоздика        | 0,08<br>52 |
| PA53 | <i>Citrus aurantium var. dulcis</i> | лепесток             | 0,08<br>51 | PC21 | <i>Althaea officinalis</i>           | корень          | 0,06<br>42 |
| PA55 | <i>Ginkgo biloba</i>                | лист                 | 0,07<br>01 | PC22 | <i>Alpinia officinarum</i>           | корневище       | 0,06<br>58 |
| PA57 | <i>Lamium album</i>                 | цветок               | 0,05<br>91 | PC23 | <i>Ginkgo biloba</i>                 | лист            | 0,07<br>75 |

|      |                                  |                            |            |      |                              |                    |            |
|------|----------------------------------|----------------------------|------------|------|------------------------------|--------------------|------------|
| PA60 | <i>Olea europaea</i>             | лист                       | 0,05<br>72 | PC24 | <i>Panax ginseng</i>         | боковой<br>корень  | 0,17<br>82 |
| PA61 | <i>Ilex paraguariensis</i>       | лист                       | 0,05<br>98 | PC25 | <i>Zingiber officinale</i>   | корневище          | 0,07<br>8  |
| PA62 | <i>Artemisia vulgaris</i>        | лист                       | 0,04<br>47 | PC26 | <i>Juniperus communis</i>    | плод               | 0,05<br>05 |
| PA67 | <i>Epilobium parviflorum</i>     | надземная<br>часть         | 0,05<br>49 | PC27 | <i>Geranium robertianum</i>  | надземная<br>часть | 0,06<br>39 |
| PA69 | <i>Chamomilla recutita</i>       | соцветие                   | 0,03<br>99 | PC28 | <i>Gentiana lutea</i>        | корень             | 0,09<br>92 |
| PA70 | <i>Sisymbrium officinale</i>     | надземная<br>часть         | 0,03<br>34 | PC29 | <i>Rubia tinctorium</i>      | корень             | 0,08<br>68 |
| PA72 | <i>Asparagus officinalis</i>     | корень                     | 0,05<br>23 | PC32 | <i>Jasminum officinale</i>   | цветок             | 0,06<br>16 |
| PA73 | <i>Pimpinella anisum</i>         | плод                       | 0,09<br>93 | PC33 | <i>Combretum micranthum</i>  | лист               | 0,07<br>69 |
| PA74 | <i>Ribes nigrum</i>              | плод                       | 0,07<br>69 | PC34 | <i>Satureja montana</i>      | лист               | 0,07<br>15 |
| PA75 | <i>Crataegus oxyacantha</i>      | верхняя<br>часть<br>побега | 0,06<br>56 | PC35 | <i>Cassia angustifolia</i>   | листочек           | 0,08<br>81 |
| PA76 | <i>Chamaemelum nobile</i>        | соцветие                   | 0,01<br>93 | PC36 | <i>Verbena officinalis</i>   | надземная<br>часть | 0,06<br>03 |
| PA79 | <i>Eucalyptus globulus</i>       | лист                       | 0,07<br>03 | PC37 | <i>Lippia citrodora</i>      | лист               | 0,08<br>13 |
| PA80 | <i>Prunus cerasus</i>            | плодоножка                 | 0,01<br>41 | PC38 | <i>Veronica officinalis</i>  | целое              | 0,07<br>81 |
| PA81 | <i>Acorus calamus</i>            | корневище                  | 0,06<br>31 | PC41 | <i>Calendula officinalis</i> | лепесток           | 0,05<br>23 |
| PA82 | <i>Calluna vulgaris</i>          | цветок                     | 0,04<br>93 | PC42 | <i>Sambucus nigra</i>        | корка              | 0,05<br>93 |
| PA83 | <i>Papaver rhoeas</i>            | лепесток                   | 0,02<br>78 | PC45 | <i>Solidago gigantea</i>     | надземная<br>часть | 0,06<br>12 |
| PA85 | <i>Cuminum cuminum</i>           | плод                       | 0,10<br>2  | PC49 | <i>Tanacetum vulgare</i>     | надземная<br>часть | 0,05<br>77 |
| PA86 | <i>Centaureum erythraea</i>      | надземная<br>часть         | 0,05<br>91 | PC50 | <i>Galium odoratum</i>       | надземная<br>часть | 0,04<br>1  |
| PA88 | <i>Vaccinium myrtillus</i>       | плод                       | 0,09<br>39 | PC51 | <i>Rhamnus frangula</i>      | корка              | 0,07<br>26 |
| PA89 | <i>Vaccinium myrtillus</i>       | лист                       | 0,07<br>11 | PC52 | <i>Betula alba</i>           | корка              | 0,08<br>06 |
| PA90 | <i>Angelica archangelica</i>     | плод                       | 0,03<br>88 | PC53 | <i>Verbascum thapsus</i>     | корка              | 0,04<br>35 |
| PA92 | <i>Borago officinalis</i>        | цветок                     | 0,06<br>7  | PC54 | <i>Peumus boldus</i>         | лист               | 0,06<br>95 |
| PA93 | <i>Alchemilla vulgaris</i>       | надземная<br>часть         | 0,05<br>88 | PC55 | <i>Centaurea cyanus</i>      | лепесток           | 0,04<br>56 |
| PA94 | <i>Artemisia pontica</i>         | верхняя<br>часть<br>побега | 0,43<br>1  | PC57 | <i>Illicium verum</i>        | плод               | 0,10<br>27 |
| PA95 | <i>Illicium verum</i>            | плод                       | 0,07<br>93 | PC58 | <i>Inula helenium</i>        | корень             | 0,09<br>04 |
| PA96 | <i>Chrysanthellum americanum</i> | надземная<br>часть         | 0,07<br>68 | PC60 | <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | корка              | 0,13<br>74 |
| PA97 | <i>Harpagophytum</i>             | корень                     | 0,08<br>53 | PC61 | <i>Chamaemelum nobile</i>    | цветок             | 0,03<br>16 |

|      |                                      |                      |            |      |                                |                      |            |
|------|--------------------------------------|----------------------|------------|------|--------------------------------|----------------------|------------|
|      | <i>procumbens</i>                    |                      |            |      |                                |                      |            |
| PA98 | <i>Betula pendula</i>                | лист                 | 0,06<br>33 | PC62 | <i>Calamintha officinalis</i>  | надземная часть      | 0,07<br>26 |
| PA99 | <i>Plantago lanceolata</i>           | надземная часть      | 0,07<br>18 | PC63 | <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> | лист                 | 0,08<br>8  |
| PB00 | <i>Agropyrum repens</i>              | корневище            | 0,06<br>46 | PC64 | <i>Ononis spinosa</i>          | корень               | 0,08<br>32 |
| PB01 | <i>Carum carvi</i>                   | плод                 | 0,10<br>89 | PC65 | <i>Calluna vulgaris</i>        | цветок               | 0,04<br>46 |
| PB02 | <i>Buxus sempervirens</i>            | лист                 | 0,06<br>31 | PC66 | <i>Morus nigra</i>             | лист                 | 0,10<br>32 |
| PB03 | <i>Cichorium endivia</i>             | корень               | 0,15<br>13 | PC67 | <i>Hypericum perforatum</i>    | верхняя часть побега | 0,08<br>29 |
| PB04 | <i>Rosa canina</i>                   | плод                 | 0,12<br>27 | PC68 | <i>Achillea millefolium</i>    | верхняя часть побега | 0,03<br>32 |
| PB05 | <i>Silybum marianum</i>              | надземная часть      | 0,05<br>02 | PC70 | <i>Mentha piperita</i>         | x лист               | 0,07<br>1  |
| PB06 | <i>Asperula odorata</i>              | надземная часть      | 0,06<br>2  | PC71 | <i>Melissa officinalis</i>     | лист                 | 0,08<br>47 |
| PB07 | <i>Desmodium adscendens</i>          | лист                 | 0,04<br>93 | PC72 | <i>Cochlearia officinalis</i>  | цветки               | 0,04<br>97 |
| PB08 | <i>Combretum micranthum</i>          | лист                 | 0,07<br>09 | PC73 | <i>Malva sylvestris</i>        | цветок               | 0,06<br>15 |
| PB09 | <i>Peumus boldus</i>                 | листочек             | 0,05<br>74 | PC74 | <i>Cynara scolymus</i>         | лист                 | 0,04<br>58 |
| PB10 | <i>Rhamnus frangula</i>              | корка                | 0,06<br>82 | PC75 | <i>Arnica montana</i>          | цветок               | 0,02<br>54 |
| PB11 | <i>Arctium lappa</i>                 | корень               | 0,11<br>66 | PC76 | <i>Artemisia vulgaris</i>      | надземная часть      | 0,02<br>89 |
| PB12 | <i>Arctostaphylos uva-ursi</i>       | лист                 | 0,12<br>2  | PC78 | <i>Angelica archangelica</i>   | целое                | 0,09<br>09 |
| PB13 | <i>Cichorium intybus</i>             | корень               | 0,09<br>24 | PC79 | <i>Anethum graveolens</i>      | плод                 | 0,13<br>35 |
| PB14 | <i>Fragaria vesca</i>                | корневище            | 0,05<br>29 | PC82 | <i>Ballota nigra</i>           | надземная часть      | 0,03<br>68 |
| PB15 | <i>Citrus aurantium var. dulcis.</i> | корка                | 0,08<br>17 | PC83 | <i>Origanum majorana</i>       | лист                 | 0,05<br>39 |
| PB16 | <i>Elettaria cardamomum</i>          | плод                 | 0,06<br>06 | PC84 | <i>Zea mays</i>                | рыльце               | 0,06<br>32 |
| PB17 | <i>Althaea officinalis</i>           | лист                 | 0,03<br>02 | PC86 | <i>Agrimonia eupatoria</i>     | надземная часть      | 0,07<br>21 |
| PB18 | <i>Malva sylvestris</i>              | лист                 | 0,08<br>09 | PC88 | <i>Levisticum officinale</i>   | надземная часть      | 0,08<br>48 |
| PB19 | <i>Althaea officinalis</i>           | лист                 | 0,03<br>22 | PC94 | <i>Phaseolus vulgaris</i>      | плод                 | 0,06<br>86 |
| PB20 | <i>Tilia cordata</i>                 | верхняя часть побега | 0,05<br>96 | PC97 | <i>Hieracium pilosella</i>     | надземная часть      | 0,04<br>06 |
| PB22 | <i>Betula pendula</i>                | лист                 | 0,06<br>09 | PC98 | <i>Parietaria officinalis</i>  | надземная часть      | 0,03<br>49 |
| PB24 | <i>Tilia cordata</i>                 | заболонь             | 0,03<br>68 | PC99 | <i>Passiflora incarnata</i>    | надземная часть      | 0,08<br>17 |

|      |                            |                    |            |      |                                |                 |            |
|------|----------------------------|--------------------|------------|------|--------------------------------|-----------------|------------|
| PB25 | <i>Fucus vesiculosus</i>   | листовая пластинка | 0,11<br>19 | PD00 | <i>Rumex Patientia</i>         | корень          | 0,12<br>08 |
| PB26 | <i>Borago officinalis</i>  | цветок             | 0,03<br>42 | PD02 | <i>Petroselinum crispum</i>    | плод            | 0,10<br>84 |
| PB27 | <i>Vaccinium myrtillus</i> | плод               | 0,15<br>53 | PD05 | <i>Urtica dioica</i>           | надземная часть | 0,05<br>84 |
| PB28 | <i>Verbascum thapsus</i>   | цветок             | 0,04<br>5  | PD06 | <i>Cola acuminata</i>          | орех            | 0,15<br>56 |
| PB29 | <i>Citrus aurantium</i>    | лепесток           | 0,04<br>77 | PD07 | <i>Capsella bursa-pastoris</i> | надземная часть | 0,05<br>35 |
| PB31 | <i>Galega officinalis</i>  | надземная часть    | 0,06<br>78 | PD08 | <i>Centaurea erythraea</i>     | надземная часть | 0,05<br>8  |

Способ приготовления растительных композиций (способ А)

Каждое высушенное растение измельчали, используя кофемолку (тип 8100, SEB, Франция). Полученный порошок (растительный порошок) просеивали через 2 мм сито и консервировали в емкостях по 60 мл (Labbox, Франция).

Смеси различных измельченных высушенных растений (или растительных порошков) готовили путем сбора фиксированного объема растительного порошка калиброванной ложкой, позволяющей собрать 200 мкл порошка. Вес собранного объема зависит от конкретного растительного порошка (см. Таблицу 0-1).

Такие смеси или комбинации различных измельченных высушенных растений (или растительных порошков), а также отдельных высушенных растений в данном описании также будут называться «растительными композициями».

Способ приготовления водных экстрактов (также называемый в этом разделе «Примеры» как «обработанные образцы», «экстракты» или «смеси экстрактов») (способ В)

Такие растительные композиции помещали в пробирках типа Falcon объемом 50 мл (Falcon, США) и добавляли 20 мл или 40 мл (как указано в примерах) раствора родниковой воды пищевой степени чистоты (Volvic, Франция), содержащего 100 г/л сахарозы пищевой степени чистоты (Daddy, Франция). Выбор сахарозы и воды пищевой степени чистоты, а не их аналогов высокой степени чистоты, был определен целью получения съедобной композиции, входящей в класс «ароматизаторов», которые могут непосредственно использоваться в соответствии с Регламентом (ЕС) № 1334/2008 от 16 декабря 2008 года в ароматизаторах и некоторых пищевых ингредиентах с вкусовыми свойствами для использования в пищевых

продуктах и на них.

Каждую пробирку типа Falcon, содержащую такие жидкие препараты, перемешивали с использованием вихревой мешалки (ThermoFisher, США) в течение 10 секунд, инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут и помещали в автоклав (MED 12, JP Selecta, Испания) и подвергали 20-минутному циклу стерилизации при 119 или 121 °С, как указано. После охлаждения стерилизованный препарат хранили при -20 °С до использования.

В день манипуляции препарат размораживали при 37 °С. Препарат центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут (Multifuge 35-R, Heraeus, Германия) или инкубировали при комнатной температуре для декантации (как указано в примерах). 2 мл супернатанта собирали с помощью шприца объемом 10 мл и фильтровали с использованием фильтров 0,2 мкм (Minisart Syringe Filters, Sartorius, Германия) и собирали в пробирку типа Eppendorf объемом 2 мл. Оставшийся стерилизованный препарат хранится при -20 °С для дальнейшего использования.

Полученные таким образом образцы будут также называться «обработанными образцами» и будут идентифицироваться по тому же названию или шифру, присваиваемому соответствующей растительной композиции (например, название «Mix[2P]-1» будет использоваться для идентификации растительной композиции и соответствующего экстракта (или обработанного образца), для которого определяется биологическая активность).

Способ определения антимикробной и антибиопленочной активности (способ С)

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли с использованием штаммов, указанных в каждом эксперименте (или в Примере). Для каждого измерения каждую бактерию, хранящуюся на криогранулах при -80°C (Technical Service, Великобритания), помещают на чашку с TS агаром (триптический соевый бульон, Sigma, США; агар, Fisherbrand, США) и инкубируют при 37°C в течение ночи. Несколько колоний собирают, используя инокуляционную петлю, и суспендируют в физиологическом растворе. Оптическую плотность измеряют и

проводят разведение в TS бульоне для получения концентрации  $2,10^{5,5}$  бактерий/мл для штаммов *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus pseudintermedius*,  $2,10^5$  бактерий/мл для *Staphylococcus epidermidis*.

Биологическую активность каждого обработанного образца измеряли на 96-луночных планшетах, используя штаммы, указанные в каждом эксперименте (или Примере), и контроль без бактерий. Каждая лунка содержит 190 мкл TS бульона, инокулированного  $10^{5,5}$  бактериями/мл для штаммов *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus pseudintermedius*,  $10^5$  бактерий/мл для *Staphylococcus epidermidis* (или в концентрации, указанной в примерах для всех других видов) или не содержит бактерий для контроля и разведенного обработанного образца или отрицательного контроля (раствор сахарозы в концентрации 100 г/л без каких-либо растений) в конечной концентрации 1: 10, 1: 20, 1: 40 и 1: 80 или в 1: 20, 1: 63 и 1: 200 (как указано в примерах).

Каждый планшет инкубировали в течение 17 часов при 37 °C в инкубаторе (HettCube 400, Hettich, Германия).

Измерения были выполнены на основе анализа изображений планшетов, полученных с помощью коммерческого сканера документов (V 220, Epson, Япония), с использованием программного обеспечения ImageJ (NIH, США) (но может использоваться любое другое эквивалентное программное обеспечение). Изображения планшета, расположенного в области сканирования, получают с разрешением 600 точек на дюйм, используя программное обеспечение, поставляемое со сканером. Для каждого планшета было получено 3 изображения: первое до инкубации ( $T_0$ ), второе после 17 ч инкубации ( $T_f$ ) и третье после окрашивания кристаллическим фиолетовым (CV), как описано в разделе Optimization of microtitre plate assay for the testing of biofilm formation ability in different *Salmonella* serotypes (Agarwal, RK et al., International Food Research Journal 18 (4): 1493-1498, 2011).

Для каждой представляющей интерес лунки, из первого, второго и третьего изображения, соответственно, были охарактеризованы круглые области диаметром соответственно 14, 14

и 76 пикселей, центрированные относительно лунки, с использованием макроса ImageJ для вычисления, соответственно, среднего значения M1 и M2 от 1% менее интенсивных пикселей области и среднее значение M3 от всех пикселей области. Мутность бактериального раствора в лунке была определена из M1 и M2 с использованием эталонной кривой, полученной в независимом эксперименте, где среднее значение для 1% менее интенсивных пикселей области диаметром 14 пикселей было измерено из лунок, содержащих бактериальные растворы известной мутности. Оптическую плотность раствора кристаллического фиолетового в лунке определяли из M3, используя эталонную кривую, полученную в независимом эксперименте, где среднее значение пикселей в области диаметром 76 пикселей было измерено из лунок, содержащих растворы кристаллического фиолетового известной оптической плотности.

Для каждого обработанного образца и данной бактерии MIC определяли по наибольшему ингибирующему разведению (НID) из 4 исследуемых (1: 10, 1: 20, 1: 40, 1: 80) для обработанного образца, который предотвращает появление видимого роста в течение 17 часов. «0» назначали, когда ни одно из исследуемых разведений не препятствовало росту бактерий.

Для каждой лунки, содержащей обработанный образец и данную бактерию, процент ингибирования роста планктонных бактерий определяли в соответствии с приведенной ниже формулой:

$$\text{Ингибирование роста планктона (\%)} = \left( 1 - \frac{Tf(\text{обработанный образец}) - T0(\text{обработанный образец})}{Tf(\text{отрицательный контроль}) - T0(\text{отрицательный контроль})} \right) * 100$$

где Tf (обработанный образец) представляет собой мутность на втором изображении лунки с образцом, T0 (обработанный образец) представляет собой мутность на первом изображении той же лунки, Tf (отрицательный контроль) представляет собой мутность на втором изображении лунки, содержащий те же бактерии без обработанного образца, T0 (отрицательный контроль) представляет собой мутность первого изображения той же лунки.

Для каждой лунки, содержащей обработанный образец и данную

бактерию, процент ингибирования образования биопленки (IBF) определяли в соответствии со следующей формулой:

$$\text{Ингибирование образования биопленки (\%)} = \left( 1 - \frac{CV(\text{обработанный образец}) - CV(\text{контрольный образец})}{CV(\text{отрицательный контроль}) - CV(\text{контрольный образец})} \right) * 100$$

где CV (обработанный образец) представляет собой ОП (оптическая плотность) из третьего изображения лунки с образцом, CV (отрицательный контроль) представляет собой ОП для третьего изображения лунки, содержащей те же бактерии без обработанного образца, CV (контрольный образец) представляет собой ОП для третьего изображения лунки, содержащей тот же образец или отрицательный контроль в том же разведении без каких-либо бактерий. Отрицательное значение IBF означает, что исследуемая смесь способствует образованию биопленки.

#### Пример 1

В этом примере мы иллюстрируем одновременную антимикробную и антибиопленочную активность против *Staphylococcus aureus* раскрытой композиции из 2 растений среди 3: *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Arctostaphylos uva-ursi*. Высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция).

Исходя из таких трех различных растительных порошков, шесть растительных композиций были приготовлены в соответствии со способом А, описанным ранее, содержание которых указано в Таблице 1-1.

**Таблица 1-1: растительные композиции обработанных образцов**

| Растительные композиции | РА13<br>(nb ложка) | РА21<br>(nb ложка) | РВ12<br>(nb ложка) |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| РА13                    | 1                  |                    |                    |
| РА21                    |                    | 1                  |                    |
| РВ12                    |                    |                    | 1                  |
| Mix[2P]-1               | 1                  | 1                  |                    |
| Mix[2P]-2               |                    | 1                  | 1                  |
| Mix[2P]-3               | 1                  |                    | 1                  |

Как показано в Таблице 1-1, первые три растительные композиции содержат только один растительный порошок, тогда как

последние три композиции содержат два из трех различных растительных порошков.

Исходя из каждой растительной композиции, представленной в Таблице 1-1, соответствующие обработанные образцы готовили в соответствии со способом В, о котором сообщалось, перед использованием 20 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап центрифугирования перед фильтрацией.

Процент ингибирования роста планктонных бактерий и ингибирования образования биопленки обработанных образцов смесей 2 растений и связанных с ними отдельных растений данного Примера 1 при разведении 1: 10 определяли с использованием следующих штаммов *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923 и ATCC 29213, в соответствии со способом С сообщался ранее и приведен в Таблице 1-2.

**Таблица 1-2: Ингибирование роста планктона и образования биопленки (IBF) образца, обработанного смесью из 2 растений, и образца, обработанного одним растением, при разведении 1:10**

|            |                                     | PA13 | PA21 | Mix[2P]-1 |
|------------|-------------------------------------|------|------|-----------|
| ATCC 25923 | Ингибирование роста планктона       | 20%  | 26%  | 82%       |
|            | Ингибирование образования биопленки | 32%  | 44%  | 78%       |
| ATCC 29213 | Ингибирование роста планктона       | 16%  | 27%  | 100%      |
|            | Ингибирование образования биопленки | 33%  | 17%  | 85%       |
|            |                                     | PA21 | PB12 | Mix[2P]-2 |
| ATCC 25923 | Ингибирование роста планктона       | 26%  | 17%  | 104%      |
|            | Ингибирование образования биопленки | 44%  | 51%  | 88%       |
| ATCC 29213 | Ингибирование роста планктона       | 27%  | 8%   | 100%      |
|            | Ингибирование образования биопленки | 17%  | 28%  | 83%       |
|            |                                     | PA13 | PB12 | Mix[2P]-3 |
| ATCC 25923 | Ингибирование роста планктона       | 20%  | 17%  | 82%       |
|            | Ингибирование                       | 32%  | 51%  | 93%       |

|               |  |     |     |     |
|---------------|--|-----|-----|-----|
|               | образования биопленки                  |     |     |     |
| ATCC<br>29213 | Ингибирование роста<br>планктона       | 16% | 8%  | 66% |
|               | Ингибирование<br>образования биопленки | 33% | 28% | 78% |

РА13, РА21 и РВ12 обладают известным антибиотическим эффектом. Ограниченное ингибирование роста планктона (<27%) и образования биопленки (<51%) измеряли при разведении 1: 10, тогда как 3 ароматических препарата экстракта из смеси 2 растений проявляют антимикробные эффекты (>66%) и антибиопленочные эффекты (>78%) для обоих исследуемых штаммов, ATCC 25923 и ATCC 29213.

Для всех смесей (Mix[2P]-1, Mix[2P]-2, Mix[2P]-3) наблюдается синергетический эффект 2 растений в отношении антимикробных эффектов на 2 исследуемых штаммах.

#### Сравнительный Пример 1

В качестве сравнительного Примера мы проиллюстрируем активность некоторых обработанных образцов, которые, как было обнаружено, не обладают или обладают слабой антимикробной и антибиопленочной активностью в отношении *Staphylococcus aureus* и которые были получены из соответствующих растительных композиций, содержащих 2 разных растительных порошка.

Пять обработанных образцов были приготовлены с использованием порошков 2 дополнительных растений: РА74 (порошок плодов *Ribes nigrum*) и РС72 (порошок цветков *Cochlearia officinalis*).

Отдельные высушенные растительные порошки были обработаны, как описано в Примере 1, и пять растительных композиций готовили в соответствии с протоколом, описанным в способе А, описанном ранее. Такие пять растительных композиций имели состав, указанный в Таблице 1-3.

**Таблица 1-3: растительные композиции обработанных образцов**

| Растительные<br>композиции | РА74<br>(nb<br>ложка) | РС72<br>(nb<br>ложка) | РА13<br>(nb<br>ложка) | РА21<br>(nb<br>ложка) |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| РА74                       | 1                     |                       |                       |                       |
| РС72                       |                       | 1                     |                       |                       |
| Смесь 1                    | 1                     | 1                     |                       |                       |
| Смесь 2                    | 1                     |                       | 1                     |                       |

|         |  |   |  |   |
|---------|--|---|--|---|
| Смесь 3 |  | 1 |  | 1 |
|---------|--|---|--|---|

Каждую растительную композицию обрабатывали в соответствии с протоколом, описанным в способе В, для получения соответствующего обработанного образца, с использованием 20 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап центрифугирования перед фильтрацией.

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли с использованием следующих штаммов *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923 и ATCC 29213 в соответствии со способом С, описанным ранее.

Процент ингибирования роста планктонных бактерий и ингибирования образования биопленок обработанных образцов смесей 2 растений и связанных с ними отдельных растений при разведении 1:10 приведены в Таблице 1-4.

**Таблица 1-4: ингибирование роста планктона и образования биопленки (IBF) образца, обработанного смесью из 2 растений, и образца, обработанного одним растением, при разведении 1: 10**

|            |                                     | PC72 | PA74 | Смесь 1 |
|------------|-------------------------------------|------|------|---------|
| ATCC 25923 | Ингибирование роста планктона       | -9%  | 0%   | -3%     |
|            | Ингибирование образования биопленки | 12%  | 36%  | 24%     |
| ATCC 29213 | Ингибирование роста планктона       | -10% | -7%  | -6%     |
|            | Ингибирование образования биопленки | 13%  | 5%   | -2%     |
|            |                                     | PA13 | PA74 | Смесь 2 |
| ATCC 25923 | Ингибирование роста планктона       | 20%  | 0%   | 19%     |
|            | Ингибирование образования биопленки | 32%  | 36%  | 48%     |
| ATCC 29213 | Ингибирование роста планктона       | 16%  | -7%  | 13%     |
|            | Ингибирование образования биопленки | 33%  | 5%   | 37%     |
|            |                                     | PA21 | PC72 | Смесь 3 |
| ATCC 25923 | Ингибирование роста планктона       | 26%  | -9%  | 25%     |
|            | Ингибирование образования биопленки | 44%  | 12%  | 51%     |
| ATCC 29213 | Ингибирование роста планктона       | 27%  | -10% | 18%     |
|            | Ингибирование образования биопленки | 17%  | 13%  | 29%     |

PC72 и PA74 и соответствующая Смесь 1 не показали антимикробной активности и ограниченной антибиопленочной активности на обоих исследуемых штаммах при разведении 1: 10. В каждом случае не наблюдался синергетический эффект.

Для всех смесей, содержащих PA13 и PA21 (Смесь 2 и 3), не наблюдалось синергетического эффекта в отношении антимикробных эффектов на 2 штамма, исследуемых при разведении 1: 10, когда

такие смеси содержали также РС72 или РА74.

Интересно отметить, что как *Ribes nigrum*, так и *Cochlearia officinalis* обладают антимикробным эффектом.

Этот сравнительный Пример иллюстрирует, что никакая случайная комбинация между отдельными высушенными растениями, имеющими известную антимикробную и/или антибиопленочную активность, не позволяет получить водный экстракт, для которого наблюдается синергетическая активность.

### Пример 2

В этом Примере мы иллюстрируем одновременную антимикробную и антибиопленочную активность против *Staphylococcus aureus* различных водных экстрактов, полученных из растительных композиций, содержащих 2 растения из 3, описанных в Примере 1, когда такие водные экстракты готовят в соответствии с различными способами.

Высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция).

Двадцать растительных композиций, содержание которых указано в Таблице 2-1, были приготовлены в соответствии со способом А, описанным ранее.

**Таблица 2-1: растительные композиции обработанных образцов**

| Растительные композиции | РА13<br>(nb ложка) | РА21<br>(nb ложка) | РВ12<br>(nb ложка) |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Смесь 1                 |                    | 1                  | 1                  |
| Смесь 2                 | 1                  |                    | 1                  |

Для каждой растительной композиции готовили 20 жидких (водных) препаратов следующим образом:

Собранные порошки помещали в двадцать пробирок типа Falcon объемом 50 мл (Falcon, США). 20 мл раствора родниковой воды пищевой степени чистоты (Volvic, Франция), содержащего 0, 25, 50, 75 или 100 г/л сахарозы пищевой степени чистоты (Daddy, Франция), добавляли в каждую из 4 пробирок типа Falcon. Каждую пробирку типа Falcon, содержащую такие жидкие препараты, перемешивали с использованием вихревой мешалки (ThermoFisher, США) в течение 10 секунд, инкубировали при комнатной температуре

в течение 10 минут, затем для каждого условия применяли 4 различные процедуры нагревания:

- Холодный настой (без нагревания до центрифугирования и фильтрации):

после инкубации при комнатной температуре препараты центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут (Multifuge 35-R, Heraeus, Германия), 2 мл супернатанта собирали с помощью шприца объемом 10 мл и фильтровали с использованием фильтров 0,2 мкм (Minisart Syringe Filters, Sartorius, Германия) и собирали в пробирку типа Eppendorf объемом 2 мл и хранили при -20°C до использования. В день манипуляции препарат размораживали при 37 °C.

- Нагревание при 60 °C в течение 30 минут:

после инкубации при комнатной температуре препараты помещали в автоклав (VWR, США) и подвергали 20-минутному циклу при 60 °C. После охлаждения обработанные препараты центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут (Multifuge 35-R, Heraeus, Германия), 2 мл супернатанта собирали с помощью шприца объемом 10 мл и фильтровали с использованием фильтров 0,2 мкм (Minisart Syringe Filters, Sartorius, Германия) и собирали в пробирку типа Eppendorf объемом 2 мл и хранили при -20°C до использования. В день манипуляции препарат размораживали при 37 °C.

- Нагревание при 119 °C в течение 20 минут:

после инкубации при комнатной температуре препараты помещали в автоклав (VWR, США) и подвергали 20-минутному циклу стерилизации при 119 °C. После охлаждения обработанные препараты хранили при -20 °C до использования. В день манипуляции препарат размораживали при 37 °C, центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 минут (Multifuge 35-R, Heraeus, Германия), 1 мл супернатанта собирали с помощью шприца объемом 10 мл и фильтровали с использованием фильтров 0,2 мкм (Minisart Syringe Filters, Sartorius, Германия) и собирали в пробирку типа Eppendorf объемом 2 мл.

Данные образцы в данном документе будут называться «обработанный образец».

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли с использованием штамма *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 в соответствии с ранее описанным способом С.

Процент роста планктонных бактерий в 20 обработанных образцах, приготовленных из растительных композиций после каждой из различных обработок нагреванием, представленных ранее, при разведении 1: 10 приведены в Таблице 2-2.

**Таблица 2-2: рост планктона ATCC 25923 с 20 обработанными образцами при разведении 1: 10, приготовленном из растительных композиций (Смесь 1 и Смесь 2 из Таблицы 2-1)**

| Температурная обработка     | Концентрация сахарозы (г/л) | Смесь 1<br>Обработанные образцы | Смесь 2<br>Обработанные образцы |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| <b>Холодный настаивание</b> | 100                         | -4%                             | 48%                             |
|                             | 75                          | -3%                             | 52%                             |
|                             | 50                          | -4%                             | 31%                             |
|                             | 25                          | -4%                             | 31%                             |
|                             | 0                           | 1%                              | 0%                              |
| <b>60 °С 30 мин</b>         | 100                         | 0%                              | 82%                             |
|                             | 75                          | 4%                              | 83%                             |
|                             | 50                          | 1%                              | 83%                             |
|                             | 25                          | 1%                              | 86%                             |
|                             | 0                           | -4%                             | 16%                             |
| <b>119 °С 20 мин</b>        | 100                         | 103%                            | 92%                             |
|                             | 75                          | 103%                            | 91%                             |
|                             | 50                          | 70%                             | 94%                             |
|                             | 25                          | 103%                            | 99%                             |
|                             | 0                           | 96%                             | 99%                             |

Все обработанные образцы, приготовленные из Смеси 1, продемонстрировали антимикробные эффекты на ATCC 25923, только после температурной обработки при 119°, тогда как Смесь 2 продемонстрировала ограниченные антимикробные эффекты (от 31 до 52% ингибирования) после холодного настаивания для всех концентраций сахарозы, за исключением условия без сахарозы и после всех исследуемых температурных обработок (> 82% ингибирования), за исключением условия без добавления сахарозы, обработанного при 60 °С, для которого обработанный образец

продемонстрировал только 16% ингибирования роста планктона. Температурные обработки усилили антимикробные эффекты Смесь 2. Оптимальная температурная обработка из исследуемых обработок для Смеси 1 и Смеси 2 представляла собой 119 °С в течение 20 минут.

Влияние концентрации сахарозы на антимикробный эффект зависит от применяемой температурной обработки. Для Смеси 1, обработанной при 119 °С в течение 20 минут, такой же антимикробный эффект был получен с 100, 75, 25 и 0 г/л сахарозы, более низкая активность наблюдалась с 50 г/л. Для Смеси 2 такой же антимикробный эффект был получен независимо от концентрации сахарозы при температуре обработки 119 °С.

Процент ингибирования образования биопленки (IBF) в 20 обработанных образцах, приготовленных из растительных композиций после каждой из различных обработок нагреванием, представленных ранее, при разведении 1: 10 приведен в Таблице 2-3.

**Таблица 2-3: ингибирование образования биопленки (IBF) ATCC 25923 с 20 обработанными образцами в разведении 1: 10, приготовленном из растительных композиций (Смесь 1 и Смесь 2 из Таблицы 2-1)**

| Температурная обработка | Концентрация сахарозы (г/л) | Смесь 1, обработанные образцы | Смесь 2, обработанные образцы | Температурная обработка | Концентрация сахарозы (г/л) | Смесь 1, обработанные образцы | Смесь 2, обработанные образцы |
|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Холодное настаивание    | 100                         | 34%                           | 74%                           | 119 °С 20 мин           | 100                         | 91%                           | 89%                           |
|                         | 75                          | 29%                           | 72%                           |                         | 75                          | 91%                           | 88%                           |
|                         | 50                          | 22%                           | 60%                           |                         | 50                          | 75%                           | 89%                           |
|                         | 25                          | 30%                           | 55%                           |                         | 25                          | 92%                           | 87%                           |
|                         | 0                           | 54%                           | 50%                           |                         | 0                           | 90%                           | 89%                           |
| 60 °С 30 мин            | 100                         | 48%                           | 91%                           |                         |                             |                               |                               |
|                         | 75                          | 34%                           | 94%                           |                         |                             |                               |                               |
|                         | 50                          | 26%                           | 91%                           |                         |                             |                               |                               |
|                         | 25                          | 26%                           | 88%                           |                         |                             |                               |                               |
|                         | 0                           | 48%                           | 78%                           |                         |                             |                               |                               |

Во всех исследуемых условиях обработанные образцы продемонстрировали некоторый антибиопленочный эффект.

Для Смеси 1 ограниченная антибиопленочная активность наблюдалась для всех концентраций сахарозы при холодном настаивании и при температуре обработки 60 °С (от 22 до 55%

ингибирования). Высокая антибиопленочная активность (> 90% ингибирования) наблюдалась при температурной обработке 119°C для всех концентраций сахарозы, кроме 50 г/л, которая продемонстрировала 75% ингибирования.

Для Смеси 2 эквивалентные антибиопленочные активности были получены независимо от концентраций сахарозы для температурных обработок 60°C и 119°C (> 77% ингибирования). После холодного настаивания Смесь 2 проявляла антибиопленочный эффект от среднего до хорошего (от 50% до 74% ингибирования) в зависимости от концентрации сахарозы: чем выше концентрация сахарозы, тем выше активность препарата.

### Пример 3

В данном Примере мы иллюстрируем одновременную антимикробную и антибиопленочную активность против *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis* из 12 смесей, содержащих от 2 до 7 растений.

Высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция).

Растительные композиции, содержащие от 2 до 7 растительных порошков, готовили путем сбора фиксированного объема растительного порошка с помощью калиброванной ложки, позволяющей собрать 200 мкл порошка

Двенадцать растительных композиций были приготовлены, как показано ниже (Таблица 3-1) в соответствии с ранее описанным способом А.

**Таблица 3-1: растительные композиции обработанных образцов**

| Растительные композиции | PA13 (nb ложка) | PA21 (nb ложка) | PB12 (nb ложка) | PA11 (nb ложка) | PA12 (nb ложка) | PA22 (nb ложка) | PA79 (nb ложка) |
|-------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Mix[2P]-1               | 1               | 1               |                 |                 |                 |                 |                 |
| Mix[2P]-2               |                 | 1               | 1               |                 |                 |                 |                 |
| Mix[2P]-3               | 1               |                 | 1               |                 |                 |                 |                 |
| Mix[3P]-1               | 1               | 1               | 1               |                 |                 |                 |                 |
| Mix[4P]-1               | 1               | 1               | 1               | 1               |                 |                 |                 |
| Mix[4P]-2               | 1               | 1               | 1               |                 | 1               |                 |                 |
| Mix[4P]-3               | 1               | 1               | 1               |                 |                 | 1               |                 |
| Mix[5P]-1               | 1               | 1               | 1               |                 | 1               | 1               |                 |
| Mix[5P]-2               | 1               | 1               | 1               | 1               |                 | 1               |                 |



|                       |                |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |             |
|-----------------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>S. epidermidis</i> | ATCC 9144      | 10          | 10          | 10          | 10          | 10          | 10          | 10          | 20          | 20          | 20          | 10          | 20          |
|                       | ATCC ВАА-44    | 10          | 10          | 10          | 10          | 10          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          |
|                       | <b>Среднее</b> | <b>10,0</b> | <b>10,0</b> | <b>8,0</b>  | <b>11,0</b> | <b>11,0</b> | <b>13,0</b> | <b>13,0</b> | <b>17,0</b> | <b>17,0</b> | <b>18,0</b> | <b>14,0</b> | <b>19,0</b> |
|                       | ATCC 12228     | 10          | 10          | 10          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 40          |
|                       | ATCC 700296    | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 40          |
|                       | ATCC 49461     | 10          | 10          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          |
|                       | ATCC 14990     | 10          | 20          | 10          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          | 20          |
| <b>Среднее</b>        | <b>12,5</b>    | <b>15</b>   | <b>15</b>   | <b>20</b>   | <b>30</b>   |             |
| <b>Общее среднее</b>  | <b>10,7</b>    | <b>11,4</b> | <b>10,0</b> | <b>13,6</b> | <b>13,6</b> | <b>15,0</b> | <b>15,0</b> | <b>17,9</b> | <b>17,9</b> | <b>18,6</b> | <b>15,7</b> | <b>22,1</b> |             |

Поскольку в данном примере наблюдаемые значения НІД в большинстве случаев находятся между 1: 10 и 1: 20, в качестве эталонного разбавления для расчета процента ингибирования роста планктонных бактерий и процента ингибирования образования биопленки был выбран раствор 1: 20. Процент ингибирования роста планктонных бактерий в 12 обработанных образцах при разведении 1: 20 приведен в Таблице 3-3, также как и средняя эффективность по всем штаммам *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*.

**Таблица 3-3: ингибирование роста планктона 12 обработанных образцов на 10 штаммах *Staphylococcus aureus* и 4 штаммах *Staphylococcus epidermidis* при разведении 1: 20**

|                  |            | Mix [2P] -1 | Mix [2P] -2 | Mix [2P] -3 | Mix [3P] -1 | Mix [4P] -1 | Mix [4P] -2 | Mix [4P] -3 | Mix [5P] -1 | Mix [5P] -2 | Mix [5P] -3 | Mix [6P] -1 | Mix [7P] -1 |
|------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>S. aureus</i> | ATCC 25923 | 12%         | 12%         | 9%          | 11%         | 20%         | 11%         | 20%         | 34%         | 41%         | 35%         | 21%         | 96%         |
|                  | ATCC 29213 | 11%         | 11%         | 7%          | 11%         | 19%         | 11%         | 11%         | 33%         | 33%         | 33%         | 29%         | 45%         |
|                  | NCTC 12493 | 19%         | 8%          | 5%          | 25%         | 21%         | 101%        | 97%         | 98%         | 108%        | 108%        | 96%         | 100%        |
|                  | ATCC 33591 | 12%         | 8%          | 8%          | 12%         | 19%         | 16%         | 34%         | 104%        | 107%        | 111%        | 83%         | 98%         |
|                  | ATCC 33592 | 19%         | 15%         | 12%         | 18%         | 26%         | 23%         | 26%         | 86%         | 105%        | 98%         | 38%         | 100%        |

|                       |                      |            |            |            |            |             |             |            |             |             |             |             |            |
|-----------------------|----------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|
|                       | ATCC 43300           | 18%        | 11%        | 11%        | 15%        | 18%         | 18%         | 18%        | 33%         | 34%         | 37%         | 16%         | 97%        |
|                       | ATCC 700698          | 11%        | 8%         | 8%         | 11%        | 11%         | 11%         | 16%        | 107%        | 97%         | 73%         | 40%         | 98%        |
|                       | ATCC 700699          | 43%        | 36%        | 38%        | 87%        | 98%         | 99%         | 99%        | 100%        | 108%        | 112%        | 116%        | 98%        |
|                       | ATCC 9144            | 12%        | 7%         | 8%         | 12%        | 24%         | 17%         | 24%        | 80%         | 97%         | 73%         | 43%         | 94%        |
|                       | ATCC ВАА-44          | 30%        | 11%        | 12%        | 32%        | 28%         | 83%         | 102%       | 100%        | 107%        | 110%        | 114%        | 103%       |
|                       | <b>Среднее</b>       | <b>19%</b> | <b>13%</b> | <b>12%</b> | <b>23%</b> | <b>28%</b>  | <b>39%</b>  | <b>45%</b> | <b>78%</b>  | <b>84%</b>  | <b>79%</b>  | <b>60%</b>  | <b>93%</b> |
| <i>S. epidermidis</i> | ATCC 12228           | 49%        | 49%        | 66%        | 94%        | 99%         | 99%         | 98%        | 99%         | 99%         | 104%        | 114%        | 97%        |
|                       | ATCC 700296          | 87%        | 83%        | 78%        | 94%        | 99%         | 99%         | 95%        | 101%        | 98%         | 102%        | 105%        | 92%        |
|                       | ATCC 49461           | 68%        | 68%        | 70%        | 93%        | 101%        | 101%        | 97%        | 102%        | 102%        | 106%        | 112%        | 93%        |
|                       | ATCC 14990           | 38%        | 71%        | 61%        | 92%        | 103%        | 100%        | 95%        | 102%        | 102%        | 106%        | 107%        | 93%        |
|                       | <b>Среднее</b>       | <b>61%</b> | <b>68%</b> | <b>69%</b> | <b>94%</b> | <b>100%</b> | <b>100%</b> | <b>96%</b> | <b>101%</b> | <b>100%</b> | <b>104%</b> | <b>109%</b> | <b>94%</b> |
|                       | <b>Общее среднее</b> | <b>31%</b> | <b>28%</b> | <b>28%</b> | <b>43%</b> | <b>49%</b>  | <b>56%</b>  | <b>59%</b> | <b>84%</b>  | <b>88%</b>  | <b>86%</b>  | <b>74%</b>  | <b>93%</b> |

Процент ингибирования образования биопленки (IBF) для 12 обработанных образцов в разведении 1: 20 приведен в Таблице 3-4, также как средняя эффективность по всем штаммам *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. Средняя эффективность ингибирования роста планктонных бактерий и образования биопленки в процентах по всем исследуемым штаммам является хорошим показателем антимикробной и антибиопленочной эффективности на различных штаммах бактерий.

Таблица 3-4: ингибирование образования биопленки (IBF) для 12 обработанных образцов на 10 штаммах *Staphylococcus aureus* и 4 штаммах *Staphylococcus epidermidis* при разведении 1: 20

|                  |            | Mix [2P] -1 | Mix [2P] -2 | Mix [2P] -3 | Mix [3P] -1 | Mix [4P] -1 | Mix [4P] -2 | Mix [4P] -3 | Mix [5P] -1 | Mix [5P] -2 | Mix [5P] -3 | Mix [6P] -1 | Mix [7P] -1 |
|------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <i>S. aureus</i> | ATCC 25923 | 37%         | 14%         | 22%         | 18%         | 29%         | 36%         | 35%         | 51%         | 41%         | 40%         | 38%         | 90%         |
|                  | ATCC 29213 | 49%         | 12%         | 38%         | 27%         | 33%         | 38%         | 25%         | 35%         | 38%         | 34%         | 38%         | 41%         |

|                       |                      |                 |            |                 |                 |                 |                 |                 |            |            |            |            |                 |
|-----------------------|----------------------|-----------------|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|------------|------------|------------|-----------------|
|                       | NCTC 12493           | 49<br>%         | -6%        | 47<br>%         | 36<br>%         | 35<br>%         | 88<br>%         | 87<br>%         | 92%        | 92%        | 89%        | 47%        | 93<br>%         |
|                       | ATCC 33591           | 38<br>%         | -<br>21%   | 30<br>%         | 16<br>%         | 20<br>%         | 25<br>%         | 19<br>%         | 92%        | 91%        | 89%        | 57%        | 93<br>%         |
|                       | ATCC 33592           | 51<br>%         | -<br>10%   | 26<br>%         | 25<br>%         | 43<br>%         | 47<br>%         | 31<br>%         | 60%        | 78%        | 70%        | 43%        | 91<br>%         |
|                       | ATCC 43300           | 33<br>%         | -<br>19%   | 24<br>%         | 2%<br>%         | 18<br>%         | 26<br>%         | 2%<br>%         | -<br>15%   | -<br>22%   | -<br>18%   | -<br>19%   | 68<br>%         |
|                       | ATCC 700698          | 27<br>%         | -8%        | 20<br>%         | 10<br>%         | 25<br>%         | 23<br>%         | 13<br>%         | 62%        | 61%        | 39%        | 24%        | 88<br>%         |
|                       | ATCC 700699          | 61<br>%         | 34%        | 63<br>%         | 64<br>%         | 79<br>%         | 78<br>%         | 86<br>%         | 89%        | 87%        | 86%        | 87%        | 90<br>%         |
|                       | ATCC 9144            | 33<br>%         | -<br>10%   | 22<br>%         | 16<br>%         | 21<br>%         | 10<br>%         | 16<br>%         | 37%        | 59%        | 28%        | 0%         | 81<br>%         |
|                       | ATCC ВАА-44          | 50<br>%         | 22%        | 47<br>%         | 40<br>%         | 39<br>%         | 48<br>%         | 89<br>%         | 92%        | 90%        | 87%        | 91%        | 93<br>%         |
|                       | <b>Среднее</b>       | <b>43<br/>%</b> | <b>1%</b>  | <b>34<br/>%</b> | <b>25<br/>%</b> | <b>34<br/>%</b> | <b>42<br/>%</b> | <b>40<br/>%</b> | <b>59%</b> | <b>62%</b> | <b>54%</b> | <b>41%</b> | <b>83<br/>%</b> |
| <i>S. epidermidis</i> | ATCC 12228           | 62<br>%         | -<br>32%   | 78<br>%         | 84<br>%         | 95<br>%         | 92<br>%         | 92<br>%         | 92%        | 91%        | 93%        | 96%        | 96<br>%         |
|                       | ATCC 700296          | 61<br>%         | 39%        | 78<br>%         | 73<br>%         | 85<br>%         | 86<br>%         | 84<br>%         | 80%        | 75%        | 76%        | 79%        | 87<br>%         |
|                       | ATCC 49461           | 18<br>%         | 15%        | 72<br>%         | 84<br>%         | 90<br>%         | 90<br>%         | 90<br>%         | 88%        | 88%        | 86%        | 90%        | 94<br>%         |
|                       | ATCC 14990           | 68<br>%         | 39%        | 68<br>%         | 88<br>%         | 94<br>%         | 91<br>%         | 92<br>%         | 90%        | 90%        | 89%        | 91%        | 90<br>%         |
|                       | <b>Среднее</b>       | <b>52<br/>%</b> | <b>15%</b> | <b>74<br/>%</b> | <b>82<br/>%</b> | <b>91<br/>%</b> | <b>90<br/>%</b> | <b>89<br/>%</b> | <b>87%</b> | <b>86%</b> | <b>86%</b> | <b>89%</b> | <b>92<br/>%</b> |
|                       | <b>Общее среднее</b> | <b>45<br/>%</b> | <b>5%</b>  | <b>45<br/>%</b> | <b>42<br/>%</b> | <b>50<br/>%</b> | <b>56<br/>%</b> | <b>54<br/>%</b> | <b>67%</b> | <b>69%</b> | <b>63%</b> | <b>54%</b> | <b>85<br/>%</b> |

Экстракты смесей из 2 растений показали полную антимикробную активность при разведении 1: 10 на 10 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus*, за исключением Mix[2P]-3, которая не имела антимикробной активности при исследуемом разведении на 2 из 10 исследуемых штаммов *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213 и ATCC 43300) (см. Таблицу 3-2).

Три экстракта смесей из 2 растений продемонстрировали различную антимикробную активность на 4 исследуемых штаммах *Staphylococcus epidermidis*. Mix[2P]-1 имела НИД 1: 10 для 3 штаммов (ATCC 12228, ATCC 49461 и ATCC 14990) и НИД 1: 20 для штамма ATCC 700296. Mix[2P]-2 имела НИД 1: 10 для 2 штаммов (ATCC 12228 и ATCC 49461) и НИД 1: 20 для 2 других штаммов (ATCC 700296 и ATCC 14990). Принимая во внимание, что Mix[2P] -3 имела НИД 1: 10 для 2 штаммов (ATCC 12228 и ATCC 14990) и НИД 1: 20 для 2 других штаммов (ATCC 700296 и ATCC 49461) (см. Таблицу 3-

2).

Mix[3P]-1, полученная из 3 растений, включенных в Mix[2P]-1, Mix[2P]-2 и Mix[2P]-3, показала более широкую антимикробную активность, чем 3 смеси из двух растений (НID 1: 10 для 9 штаммов *Staphylococcus aureus* и НID 1: 20 на ATCC 700699, НID 1: 20 для 4 исследуемых *Staphylococcus epidermidis*) (см. Таблицу 3-2). Усиление противомикробной активности подтверждается расчетом процента ингибирования роста планктона для каждой смеси растений (см. Таблицу 3-3).

3 различных растения, PA11, PA12 и PA22, были добавлены в смесь из 3 растений Mix[3P]-1, чтобы получить три экстракта смесей из 4 растений, Mix[4P]-1, Mix[4P]-2 и Mix[4P]-3, соответственно. Данные экстракты смесей из 4 растений продемонстрировали такую же НID или более высокую НID, чем экстракт смеси из 3 растений Mix[3P]-1 (см. Таблицу 3-2), и более высокий процент ингибирования роста планктона: в среднем получается от 28% до 45% с экстрактами смесей из 4 растений на 10 штаммах *Staphylococcus aureus* по сравнению с 23% с экстрактом смеси из 3 растений (см. Таблицу 3-3). Они также продемонстрировали более высокий процент ингибирования образования биопленки: в среднем получается от 34% до 42% с экстрактами смесей из 4 растений на 10 штаммах *Staphylococcus aureus* по сравнению с 25% с экстрактом из смеси 3 растений (см. Таблицу 3-4).

Смеси из 5 растений готовили путем добавления 2 растений из 3 выбранных дополнительных растений. Все три экстракта смесей из 5 растений продемонстрировали более высокую антимикробную и антибиопленочную активность, чем экстракты смесей из 4 растений (см. Таблицы 3-2, 3-3 и 3-4).

Mix[6P]-1 состоит из 6 растений, которые использовались для приготовления предварительно исследованных обработанных образцов. Интересно, что экстракт смеси из 6 растений продемонстрировал меньшую антимикробную и антибиопленочную активность, чем экстракты смесей из 5 растений, но более высокий антимикробный эффект и более высокий эквивалентный антибиопленочный эффект, чем экстракты смесей из 4 растений.

Антимикробная и антибиопленочная активность была восстановлена и усилена добавлением нового растения (РА79) (см. Таблицы 3-2, 3-3 и 3-4).

Увеличение количества растений в смесях позволило приготовить соответствующие водные экстракты, обладающие повышенной антимикробной и антибиопленочной активностью и увеличенные количества штаммов, на которых можно идентифицировать одну или обе эти активности

#### **Пример 4**

В данном Примере мы иллюстрируем одновременную антимикробную и антибиопленочную активность против *Staphylococcus aureus* 196 водных экстрактов, полученных из растительных композиций, содержащих по меньшей мере 2 растения из 3 растений, описанных в Примере 1, и дополнительные растения для образования смесей из 3-10 растений.

Высушенные растения фармацевтического степени чистоты были получены от «Pharmacie Fontgiève» (Клермон-Ферран, Франция, растения от РА00 до РВ12) и «Pharmacie St Herem» (Клермон-Ферран, Франция, растения от РВ13 до РД08).

4 эталонные растительные композиции Mix[2P]-1, Mix[2P]-2, Mix[2P]-3, Mix[3P]-1 и 196 новых растительных композиций были приготовлены в соответствии с ранее описанным способом А и имели состав, указанный в перечне 4-1.

#### **Перечень 4-1: растительные композиции обработанных образцов**

Mix[2P]-1: РА13; РА21;

Mix[2P]-2: РА21; РВ12;

Mix[2P]-3: РА13; РВ12;

Mix[3P]-1: РА13; РА21; РВ12;

Mix[3P]-2: РА11; РА13; РА21;

Mix[3P]-3: РА21; РВ12; РС63;

Mix[3P]-4: РА13; РВ12; РС63;

Mix[3P]-5: РА13; РА21; РС63;

Mix[3P]-6: РА13; РА21; РВ12;

Mix[3P]-7: РА21; РВ12; РС29;

Mix[3P]-8: РА13; РВ12; РС29;

Mix[3P]-9: РА13; РА21; РВ12;

Mix[4P]-1: PA11; PA13; PA21; PB12;  
 Mix[4P]-2: PA12; PA13; PA21; PB12;  
 Mix[4P]-3: PA13; PA21; PA22; PB12;  
 Mix[4P]-4: PA11; PA13; PA21; PA22;  
 Mix[4P]-5: PA13; PA21; PB12; PC63;  
 Mix[4P]-6: PA11; PA12; PA21; PB12;  
 Mix[4P]-7: PA11; PA12; PA13; PB12;  
 Mix[4P]-8: PA11; PA13; PA21; PB12;  
 Mix[4P]-9: PA12; PA13; PA21; PB12;  
 Mix[4P]-10: PA13; PA21; PB12; PC29;  
 Mix[5P]-1: PA12; PA13; PA21; PA22; PB12;  
 Mix[5P]-2: PA11; PA13; PA21; PA22; PB12;  
 Mix[5P]-3: PA11; PA12; PA13; PA21; PB12;  
 Mix[5P]-4: PA11; PA12; PA21; PA22; PB12;  
 Mix[5P]-5: PA11; PA12; PA13; PA22; PB12;  
 Mix[5P]-6: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22;  
 Mix[5P]-7: PA13; PA21; PA22; PB12; PC63;  
 Mix[5P]-8: PA13; PA21; PB12; PC29; PC63;  
 Mix[6P]-1: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PB12;  
 Mix[6P]-2: PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-3: PA11; PA13; PA21; PA22; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-4: PA11; PA12; PA13; PA21; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-5: PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-6: PA11; PA13; PA21; PA22; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-7: PA11; PA12; PA21; PA22; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-8: PA11; PA12; PA13; PA22; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-9: PA11; PA12; PA13; PA21; PB12; PC63;  
 Mix[6P]-10: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PC63;  
 Mix[6P]-11: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PB12;  
 Mix[7P]-1: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PA79;  
 M[7P]-2: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PB49;  
 M[7P]-3: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PC29;  
 M[7P]-4: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PC63;  
 M[9P]-11: PA12; PA13; PA21; PA22; PA79; PB12; PB49; PC29; PC63;  
 M[9P]-12: PA11; PA13; PA21; PA22; PA79; PB12; PB49; PC29; PC63;  
 M[9P]-13: PA11; PA12; PA21; PA22; PA79; PB12; PB49; PC29; PC63;

M[9P]-14: PA11; PA12; PA13; PA22; PA79; PB12; PB49; PC29; PC63;  
M[9P]-15: PA11; PA12; PA13; PA21; PA79; PB12; PB49; PC29; PC63;  
M[9P]-16: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PB49; PC29; PC63;  
M[9P]-17: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79; PB49; PC29; PC63;  
M[9P]-18: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79; PB12; PC29; PC63;  
M[9P]-19: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79; PB12; PB49; PC63;  
M[9P]-20: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79; PB12; PB49; PC29;  
M[10P]-40: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA23; PA67; PB12; PC27;  
PC60;  
M[10P]-44: PA13; PA40; PA41; PA62; PA75; PB18; PC22; PC63; PC64;  
PD05;  
M[10P]-71: PA21; PA85; PB14; PB18; PB85; PC19; PC61; PC63; PD05;  
PD08;  
M[10P]-75: PA02; PA10; PA12; PA13; PA18; PA21; PA27; PA79; PB86;  
PC26;  
M[10P]-84: PA10; PA21; PA27; PB12; PB15; PC26; PC68; PD05; PD06;  
PD08;  
M[10P]-98: PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA21; PA27; PB16; PB18;  
PD06;  
M[10P]-102: PA12; PA13; PA19; PA21; PA41; PA79; PB10; PC26;  
PC61; PC64;  
M[10P]-103: PA13; PA17; PA21; PA24; PB08; PB49; PB85; PC15;  
PC29; PD05;  
M[10P]-105: PA10; PA11; PA12; PA18; PA19; PA21; PA22; PB12;  
PC63; PD08;  
M[10P]-109: PA10; PA12; PA13; PA21; PA27; PA75; PB14; PB16;  
PC45; PC63;  
M[10P]-112: PA08; PA13; PA15; PA17; PA18; PA21; PA27; PB18;  
PB41; PB81;  
M[10P]-115: PA13; PA20; PA21; PA22; PA62; PA79; PB08; PB19;  
PC15; PC61;  
M[10P]-119: PA11; PA13; PA14; PA24; PB12; PB41; PB49; PC51;  
PD06; PD08;  
M[10P]-123: PA10; PA13; PA15; PA20; PA21; PA75; PB12; PB18;  
PB49; PC63;  
M[10P]-124: PA08; PA13; PA21; PA24; PA27; PB08; PB41; PB49;

PC64; PD05;  
 M[10P]-125: PA13; PA14; PA19; PA21; PA75; PB12; PC15; PC26;  
 PC61; PC63;  
 M[10P]-129: PA08; PA12; PA18; PA21; PA41; PB08; PB85; PC63;  
 PC64; PD08;  
 M[10P]-130: PA12; PA13; PA21; PA24; PA27; PB10; PB41; PB49;  
 PC15; PC61;  
 M[10P]-132: PA12; PA20; PA21; PA24; PC15; PC26; PC61; PC63;  
 PC64; PD08;  
 M[10P]-134: PA21; PA22; PA24; PA27; PB10; PB12; PB49; PC15;  
 PC29; PD05;  
 M[10P]-136: PA10; PA11; PA12; PA13; PA18; PA21; PB16; PB18;  
 PC26; PC29;  
 M[10P]-140: PA13; PA15; PA21; PA24; PA62; PA79; PB10; PB12;  
 PC63; PC64;  
 M[10P]-142: PA11; PA12; PA13; PA19; PA21; PB12; PB85; PC15;  
 PC26; PC64;  
 M[10P]-144: PA13; PA15; PA21; PA24; PA75; PB49; PC51; PC61;  
 PC64; PD05;  
 M[10P]-145: PA12; PA13; PA17; PA20; PA21; PA79; PB08; PB16;  
 PB85; PC63;  
 M[10P]-148: PA10; PA13; PA20; PA24; PB08; PB12; PB49; PC26;  
 PC51; PC64;  
 M[10P]-149: PA13; PA14; PA15; PA19; PA21; PB08; PB10; PB41;  
 PC15; PC61;  
 M[10P]-150: PA10; PA12; PA13; PA14; PA21; PA62; PB10; PC26;  
 PC64; PD06;  
 M[10P]-151: PA10; PA13; PA21; PA22; PA24; PA41; PB49; PC15;  
 PC61; PC63;  
 M[10P]-152: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA27; PA75; PB12;  
 PB49; PB85;  
 M[10P]-154: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79; PB12; PB49;  
 PC29; PC63;  
 M[10P]-156: PA15; PA21; PA22; PB10; PB85; PC26; PC29; PC61;  
 PC63; PC64;  
 M[10P]-157: PA11; PA13; PA15; PA19; PA21; PB18; PB41; PC15;

PC51; PD08;  
 M[10P]-158: PA10; PA17; PA21; PA24; PA27; PA41; PB49; PC26;  
 PC61; PC63;  
 M[10P]-160: PA10; PA12; PA13; PA15; PA18; PA20; PA21; PA24;  
 PB12; PC26;  
 M[10P]-162: PA12; PA13; PA21; PA27; PA79; PB12; PB16; PB18;  
 PC63; PC64;  
 M[10P]-164: PA12; PA13; PA15; PA19; PA21; PA27; PB08; PB12;  
 PB49; PD05;  
 M[10P]-165: PA13; PA15; PA22; PA75; PA79; PB12; PB18; PC15;  
 PC26; PC29;  
 M[10P]-167: PA12; PA13; PA75; PB08; PB12; PB85; PC15; PC51;  
 PC61; PC63;  
 M[10P]-168: PA11; PA13; PA17; PA21; PA27; PA62; PA79; PB16;  
 PB49; PC64;  
 M[10P]-169: PA12; PA17; PA21; PA24; PA75; PA79; PB10; PB12;  
 PB85; PC15;  
 M[10P]-170: PA11; PA13; PA15; PA20; PA21; PA22; PC26; PC29;  
 PC63; PC64;  
 M[10P]-172: PA13; PA20; PA21; PA75; PB10; PB12; PB18; PB49;  
 PC29; PC61;  
 M[10P]-173: PA10; PA12; PA13; PA14; PA19; PA20; PA21; PA79;  
 PC15; PC63;  
 M[10P]-174: PA11; PA12; PA13; PA27; PA62; PB12; PB16; PB49;  
 PB85; PC26;  
 M[10P]-175: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA75; PB10; PB49;  
 PC15; PC63;  
 M[10P]-176: PA11; PA13; PA21; PA24; PA62; PB12; PC15; PC26;  
 PC61; PC64;  
 M[10P]-178: PA11; PA14; PA15; PA18; PA19; PA21; PA22; PB16;  
 PC15; PC63;  
 M[10P]-180: PA08; PA11; PA12; PA13; PA15; PA17; PA21; PA62;  
 PB12; PC63;  
 M[10P]-181: PA13; PA19; PA21; PA22; PA79; PB08; PB10; PB18;  
 PC15; PC29;  
 M[10P]-182: PA11; PA15; PA20; PA21; PA22; PA75; PB12; PC29;

PC63; PC64;  
 M[10P]-183: PA11; PA12; PA13; PA27; PA79; PB16; PB18; PB49;  
 PC15; PC63;  
 M[10P]-184: PA11; PA13; PA15; PA20; PA21; PA22; PA27; PA75;  
 PB12; PC29;  
 M[10P]-186: PA11; PA15; PA19; PA20; PA21; PA22; PA27; PB10;  
 PB12; PB85;  
 M[10P]-188: PA11; PA12; PA13; PA19; PA21; PA75; PA79; PB49;  
 PC15; PC63;  
 M[10P]-190: PA11; PA13; PA21; PA22; PA27; PA75; PB10; PB12;  
 PB49; PC63;  
 M[10P]-191: PA13; PA19; PA20; PA21; PA79; PB10; PB18; PB85;  
 PC29; PC61;  
 M[10P]-192: PA12; PA13; PA19; PA21; PA27; PA75; PB12; PB49;  
 PC63; PC64;  
 M[10P]-193: PA13; PA15; PA20; PA21; PA79; PB16; PC15; PC26;  
 PC29; PC61;  
 M[10P]-194: PA11; PA17; PA21; PA22; PA27; PB12; PB49; PC15;  
 PC63; PC64;  
 M[10P]-196: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA75; PB10; PB18;  
 PC51; PC63;  
 M[10P]-197: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA24; PA79; PB49;  
 PC61; PC64;  
 M[10P]-198: PA12; PA15; PA21; PA22; PB12; PB16; PB85; PC15;  
 PC26; PC29;  
 M[10P]-199: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA75; PB12; PC15;  
 PC63; PC64;  
 M[10P]-201: PA11; PA13; PA20; PA21; PA22; PA27; PA75; PB12;  
 PB49; PC64;  
 M[10P]-202: PA11; PA21; PA75; PB10; PB12; PB61; PC26; PC29;  
 PC42; PC63;  
 M[10P]-205: PA11; PA13; PA19; PA21; PA22; PA27; PA75; PB12;  
 PB41; PC63;  
 M[10P]-207: PA11; PA13; PA21; PA75; PB10; PB12; PB41; PB51;  
 PC45; PC63;  
 M[10P]-209: PA12; PA13; PA21; PA24; PA75; PB12; PB16; PB49;

PB60; PC15;  
M[10P]-210: PA13; PA15; PA20; PA22; PA27; PB08; PB10; PB12;  
PB18; PC63;  
M[10P]-212: PA11; PA13; PA21; PA22; PA27; PA75; PB12; PB16;  
PC15; PC63;  
M[10P]-214: PA11; PA12; PA15; PA21; PA22; PA75; PB12; PB49;  
PC15; PC61;  
M[10P]-215: PA11; PA12; PA13; PA21; PA25; PB12; PC02; PC29;  
PC51; PC64;  
M[10P]-216: PA11; PA12; PA13; PA21; PA27; PA75; PA85; PB18;  
PB49; PC49;  
M[10P]-217: PA18; PA20; PA21; PA22; PA75; PB10; PB12; PB16;  
PB85; PC64;  
M[10P]-218: PA10; PA13; PA15; PA20; PA22; PA27; PB18; PB49;  
PC51; PC63;  
M[10P]-219: PA12; PA13; PA15; PA19; PA21; PA22; PA75; PB10;  
PB12; PC26;  
M[10P]-220: PA11; PA12; PA13; PA19; PA21; PA22; PA27; PB12;  
PB49; PC63;  
M[10P]-221: PA13; PA15; PA19; PA20; PA21; PA41; PA75; PB12;  
PC15; PC60;  
M[10P]-222: PA05; PA13; PA21; PA22; PA75; PA79; PB49; PC26;  
PC29; PC63;  
M[10P]-223: PA11; PA12; PA13; PA22; PA25; PA75; PB12; PB49;  
PC61; PC64;  
M[10P]-225: PA12; PA13; PA21; PA27; PB10; PB12; PC29; PC63;  
PC64; PD08;  
M[10P]-226: PA11; PA12; PA21; PA39; PA79; PB18; PB49; PB85;  
PC61; PC63;  
M[10P]-227: PA11; PA12; PA15; PA20; PA21; PA22; PB12; PB42;  
PC15; PC26;  
M[10P]-229: PA13; PA20; PA62; PA79; PB12; PB46; PB85; PC29;  
PC64; PD08;  
M[10P]-230: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA75; PB10; PB12;  
PB58; PC61;  
M[10P]-232: PA12; PA13; PA15; PA22; PA27; PA83; PB12; PB49;

PC26; PC63;  
M[10P]-235: PA12; PA13; PA15; PA20; PA21; PA22; PC29; PC51;  
PC63; PC65;  
M[10P]-236: PA12; PA13; PA20; PA21; PA27; PA75; PB50; PB85;  
PC29; PC64;  
M[10P]-237: PA11; PA13; PA15; PA21; PA27; PA75; PB10; PB12;  
PC63; PC70;  
M[10P]-239: PA10; PA11; PA12; PA20; PA21; PB10; PB41; PB49;  
PC63; PD08;  
M[10P]-240: PA11; PA12; PA15; PA21; PA27; PA79; PB46; PC29;  
PC51; PC63;  
M[10P]-241: PA11; PA14; PA20; PA21; PA22; PA75; PB12; PB18;  
PC15; PC29;  
M[10P]-242: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA79; PB18; PB49;  
PC51; PC63;  
M[10P]-244: PA11; PA12; PA13; PA20; PA22; PA27; PB10; PB12;  
PC63; PC64;  
M[10P]-246: PA11; PA12; PA13; PA21; PA61; PA79; PB10; PB12;  
PB18; PB85;  
M[10P]-247: PA11; PA12; PA21; PA27; PB16; PB49; PC21; PC51;  
PC61; PC63;  
M[10P]-248: PA11; PA13; PA14; PA19; PA21; PA75; PA79; PB14;  
PB49; PC15;  
M[10P]-250: PA11; PA12; PA15; PA20; PA21; PA41; PA75; PB49;  
PC26; PC63;  
M[10P]-251: PA12; PA13; PA21; PA22; PA27; PA79; PB10; PB12;  
PB13; PB16;  
M[10P]-252: PA11; PA13; PA20; PA21; PA44; PB08; PB12; PB18;  
PB88; PD06;  
M[10P]-253: PA10; PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA22; PA27;  
PA79; PC63;  
M[10P]-255: PA11; PA13; PA21; PA75; PB12; PB18; PB49; PC15;  
PC26; PC63;  
M[10P]-256: PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA23; PA75; PA79;  
PC29; PC64;  
M[10P]-257: PA13; PA20; PA21; PA27; PB12; PB49; PB83; PC29;

PC63; PD00;  
M[10P]-258: PA12; PA13; PA20; PA21; PA22; PA75; PB10; PB12;  
PC15; PC63;  
M[10P]-262: PA11; PA12; PA21; PA31; PA75; PB49; PB85; PC61;  
PC63; PC64;  
M[10P]-264: PA21; PA24; PA27; PA31; PA79; PB10; PB18; PB49;  
PC15; PC63;  
M[10P]-267: PA11; PA12; PA21; PA22; PA75; PC29; PC51; PC52;  
PC61; PC63;  
M[10P]-268: PA11; PA12; PA13; PA15; PA27; PA75; PB10; PB12;  
PB45; PC64;  
M[10P]-269: PA13; PA20; PA21; PA22; PA79; PB10; PB11; PB49;  
PC61; PC63;  
M[10P]-270: PA11; PA12; PA13; PA15; PA21; PA75; PB12; PB14;  
PB18; PC49;  
M[10P]-271: PA11; PA13; PA20; PA22; PA27; PA45; PB08; PB12;  
PB49; PC64;  
M[10P]-272: PA13; PA21; PA24; PA79; PB10; PB12; PB41; PC15;  
PC29; PC63;  
M[10P]-273: PA11; PA15; PA21; PA22; PA27; PA75; PB12; PB14;  
PC64; PD00;  
M[10P]-274: PA12; PA13; PA21; PA22; PB12; PB49; PC26; PC51;  
PC63; PC64;  
M[10P]-278: PA13; PA15; PA21; PA22; PA75; PA79; PB10; PB12;  
PB49; PC63;  
M[10P]-280: PA11; PA12; PA15; PA21; PB08; PB12; PB18; PB49;  
PB58; PC51;  
M[10P]-281: PA11; PA12; PA20; PA21; PA22; PA27; PA29; PA75;  
PB16; PC63;  
M[10P]-282: PA10; PA13; PA21; PA22; PA27; PA79; PB12; PC15;  
PC29; PC61;  
M[10P]-284: PA11; PA13; PA20; PA21; PA22; PA27; PA95; PC15;  
PC29; PC63;  
M[10P]-285: PA11; PA13; PA14; PA21; PA79; PB10; PB12; PB18;  
PB49; PB82;  
M[10P]-286: PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA21; PA79; PC51;

PC64; PC82;  
M[10P]-287: PA12; PA13; PA19; PA20; PA75; PB10; PB12; PC26;  
PC63; PD08;  
M[10P]-289: PA12; PA13; PA15; PA19; PA20; PA21; PB10; PB12;  
PC29; PC51;  
M[10P]-290: PA11; PA12; PA13; PA22; PA27; PA75; PB85; PC29;  
PC63; PD07;  
M[10P]-292: PA12; PA13; PA15; PA75; PA79; PB10; PB12; PC29;  
PC45; PC63;  
M[10P]-293: PA00; PA11; PA12; PA13; PA21; PA27; PA75; PB18;  
PB85; PC26;  
M[10P]-294: PA12; PA13; PA15; PA21; PA22; PA79; PB12; PB49;  
PC51; PC63;  
M[10P]-296: PA11; PA13; PA15; PA17; PA21; PA62; PA79; PB10;  
PB12; PC63;  
M[10P]-300: PA12; PA13; PA17; PA48; PB10; PB12; PB16; PC26;  
PC29; PC63;  
M[10P]-301: PA11; PA12; PA13; PA20; PA21; PA75; PB08; PC15;  
PC35; PC51;  
M[10P]-302: PA11; PA12; PA13; PA21; PA70; PB12; PB16; PB18;  
PC26; PC63;  
M[10P]-303: PA11; PA12; PA15; PA21; PA75; PA79; PB10; PB12;  
PC29; PC64;  
M[10P]-307: PA12; PA13; PA21; PB10; PB12; PB18; PB78; PC51;  
PC63; PD08;  
M[10P]-308: PA17; PA21; PA22; PA27; PB12; PB49; PB85; PC15;  
PC26; PC29;  
M[10P]-309: PA13; PA22; PA27; PA53; PA62; PA75; PB10; PC51;  
PC63; PD06;  
M[10P]-311: PA12; PA15; PA19; PA21; PA79; PB12; PB49; PC26;  
PC63; PC83;  
M[10P]-312: PA00; PA11; PA13; PA21; PA22; PA29; PA75; PB10;  
PB85; PC29;  
M[10P]-313: PA13; PA15; PA21; PA22; PA27; PA75; PB49; PC51;  
PC61; PC63;  
M[10P]-314: PA08; PA12; PA13; PA21; PB10; PB12; PB49; PC15;

PC32; PC64;

M[10P]-315: PA11; PA13; PA21; PA47; PA75; PB16; PB83; PC15;  
PC51; PC63;

M[10P]-317: PA11; PA12; PA19; PA21; PA22; PA79; PB10; PB16;  
PC29; PC63;

M[10P]-319: PA12; PA13; PA22; PA75; PA79; PA98; PB08; PB10;  
PB85; PC63;

M[10P]-321: PA11; PA12; PA13; PA20; PA21; PA22; PB49; PB85;  
PC55; PC63.

Соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) таких растительных композиций готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 20 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап центрифугирования перед фильтрацией.

Биологическую активность обработанного образца определяли с использованием следующих штаммов *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923, ATCC 49476, ATCC 6538, ATCC 51740, ATCC 29213 и ATCC 14775, со следующими конечными разведениями обработанных образцов: 1: 10, 1: 20, 1: 40 и 1: 80 для обработанных образцов, содержащих менее 10 ложек растительного порошка (от M[2P] до M[9P]) или 1: 20, 1: 63 и 1: 200 для обработанных образцов, содержащих 10 ложек растительного порошка (M[10P]) в соответствии с ранее описанным способом С.

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из смеси 2 растений Mix[2P]-1 при разведении 1: 20, приведены в Таблице 4-1.

**Таблица 4-1: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[2P]-1 при разведении 1: 20**

| <b>(А)</b> | Ингибир<br>ование<br>роста<br>планкто<br>на | Ингибиро<br>вание<br>образова<br>ния<br>био пленк | <b>(В)</b> | Ингибир<br>ование<br>роста<br>планкто<br>на | Ингибиро<br>вание<br>образова<br>ния<br>био пленк |
|------------|---|---|------------|---|---|
|------------|---|---|------------|---|---|

|            |     | и   |
|------------|-----|-----|
| Mix[2P]-1  | 22% | 36% |
| M[10P]-124 | 28% | 47% |
| M[10P]-236 | 24% | 50% |
| M[10P]-193 | 27% | 54% |
| M[10P]-286 | 45% | 38% |
| Mix[5P]-6  | 39% | 45% |
| M[10P]-197 | 32% | 55% |
| M[10P]-112 | 40% | 49% |
| M[10P]-157 | 41% | 52% |
| M[10P]-136 | 39% | 55% |
| M[10P]-144 | 45% | 52% |
| M[10P]-191 | 39% | 57% |
| M[10P]-168 | 44% | 53% |
| M[10P]-115 | 44% | 54% |
| M[10P]-98  | 48% | 51% |
| M[10P]-102 | 51% | 54% |
| M[10P]-150 | 49% | 59% |
| M[10P]-103 | 51% | 58% |
| M[10P]-130 | 57% | 61% |
| M[10P]-149 | 56% | 63% |
| M[10P]-181 | 65% | 70% |

|            |     | и   |
|------------|-----|-----|
| Mix[2P]-1  | 22% | 36% |
| M[10P]-75  | 23% | 40% |
| M[10P]-216 | 22% | 41% |
| M[10P]-256 | 19% | 47% |
| M[10P]-248 | 14% | 48% |

| (С)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-1  | 22%                           | 36%                                 |
| Mix[3P]-2  | 27%                           | 26%                                 |
| Mix[4P]-4  | 27%                           | 29%                                 |
| M[10P]-293 | 28%                           | 32%                                 |
| M[10P]-301 | 28%                           | 28%                                 |
| M[10P]-312 | 40%                           | 37%                                 |

Было обнаружено, что 20 обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 5 или 10 растений, обладают более высокой антибиопленочной и антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[2P]-1 (Таблица 4-1 А). Было обнаружено, что четыре экстракта из смесей 10 растений

обладают более высокой антибиопленочной активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 4-1 В). Было обнаружено, что пять обработанных образцов, содержащих 3, 4 или 10 растений, обладают более высокой антимикробной активностью и эквивалентной или меньшей антибиопленочной активностью (Таблица 4-1 С).

Средний процент ингибирования роста бактерий планктона и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 2 растения Mix[2P]-2 при разведении 1:20, приведены в Таблице 4-2.

**Таблица 4-2: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[2P]-2 при разведении 1: 20 (А) Экстракты смесей, проявляющие более высокую антимикробную и антибиопленочную активность. (В) Экстракты смесей, проявляющие антибиопленочную активность и эквивалентную или более низкую антимикробную активность. (С) Экстракты смесей, проявляющие антимикробную активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность.**

| (А)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-2  | 12%                           | -3%                                 |
| M[10P]-308 | 16%                           | 13%                                 |
| Mix[3P]-7  | 23%                           | 9%                                  |
| M[10P]-264 | 15%                           | 29%                                 |
| M[10P]-317 | 36%                           | 9%                                  |
| M[10P]-217 | 17%                           | 28%                                 |
| M[10P]-280 | 21%                           | 27%                                 |
| Mix[6P]-7  | 36%                           | 16%                                 |

| (В)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-2  | 12%                           | -3%                                 |
| M[10P]-84  | 9%                            | 27%                                 |
| M[10P]-158 | 12%                           | 30%                                 |
| M[10P]-071 | 11%                           | 35%                                 |
| M[10P]-227 | 12%                           | 42%                                 |
| M[10P]-250 | 11%                           | 44%                                 |
| M[10P]-226 | 13%                           | 51%                                 |

|            |      |     |
|------------|------|-----|
| M[10P]-267 | 17%  | 36% |
| Mix[3P]-3  | 27%  | 28% |
| M[10P]-247 | 16%  | 40% |
| M[10P]-214 | 23%  | 33% |
| M[10P]-303 | 35%  | 22% |
| M[10P]-281 | 17%  | 42% |
| M[10P]-273 | 19%  | 41% |
| Mix[5P]-4  | 34%  | 27% |
| M[10P]-198 | 16%  | 46% |
| M[10P]-241 | 26%  | 38% |
| M[10P]-132 | 23%  | 41% |
| M[10P]-239 | 28%  | 44% |
| M[10P]-262 | 25%  | 48% |
| M[10P]-129 | 28%  | 46% |
| M[10P]-186 | 31%  | 44% |
| M[10P]-311 | 40%  | 38% |
| M[10P]-134 | 32%  | 48% |
| M[10P]-182 | 40%  | 44% |
| M[10P]-178 | 39%  | 45% |
| M[10P]-202 | 37%  | 50% |
| M[10P]-156 | 40%  | 48% |
| M[10P]-194 | 41%  | 49% |
| M[10P]-105 | 47%  | 44% |
| M[10P]-240 | 42%  | 61% |
| M[10P]-169 | 53%  | 57% |
| M[9P]-13   | 100% | 86% |

(С)

|           | Ингибирование<br>роста<br>планктона | Ингибирование<br>образования<br>Биопленки |
|-----------|-------------------------------------|---|
| Mix[2P]-2 | 12%                                 | -3%                                       |
| Mix[4P]-6 | 19%                                 | -5%                                       |

Было обнаружено, что 33 обработанных образца, полученных из растительных композиций, содержащих 3, 5, 9 или 10 растений,

обладают более высокой антибиопленочной и антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[2P]-2 (Таблица 4-2 А). Было обнаружено, что шесть экстрактов смесей из 10 растений обладают более высокой антибиопленочной активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 4-2 В). Было обнаружено, что один экстракт смеси из 4 растений обладает более высокой антимикробной активностью и эквивалентной антибиопленочной активностью (Таблица 4-2 С).

Средний процент ингибирования роста бактерий планктона и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 2 растения Mix[2P]-3 при разведении 1: 20, приведены в Таблице 4-3.

**Таблица 4-3: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[2P]-3 при разведении 1: 20 (А) Экстракты смесей, проявляющие более высокую антимикробную и антибиопленочную активность. (В) Экстракты смесей, проявляющие антимикробную активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность.**

| (А)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки | (В)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-3  | 12%                           | 28%                                 | Mix[2P]-3  | 12%                           | 28%                                 |
| M[10P]-44  | 15%                           | 35%                                 | Mix[4P]-7  | 17%                           | 5%                                  |
| M[10P]-271 | 13%                           | 47%                                 | Mix[3P]-8  | 19%                           | 14%                                 |
| M[10P]-218 | 19%                           | 42%                                 | M[10P]-300 | 20%                           | 15%                                 |
| M[10P]-268 | 16%                           | 46%                                 | M[10P]-309 | 33%                           | 2%                                  |
| Mix[3P]-4  | 17%                           | 47%                                 |            |                               |                                     |
| M[10P]-210 | 22%                           | 42%                                 |            |                               |                                     |
| M[10P]-165 | 22%                           | 42%                                 |            |                               |                                     |
| Mix[5P]-5  | 29%                           | 36%                                 |            |                               |                                     |
| M[10P]-287 | 34%                           | 31%                                 |            |                               |                                     |
| M[10P]-    | 28%                           | 41%                                 |            |                               |                                     |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| 148        |     |     |
| M[10P]-290 | 31% | 39% |
| M[10P]-229 | 15% | 56% |
| M[6P]-8    | 34% | 40% |
| M[10P]-319 | 38% | 37% |
| M[10P]-244 | 21% | 56% |
| M[10P]-223 | 23% | 55% |
| M[10P]-232 | 25% | 61% |
| M[10P]-119 | 42% | 48% |
| M[10P]-183 | 39% | 51% |
| M[10P]-292 | 47% | 48% |
| M[10P]-174 | 47% | 59% |
| M[10P]-167 | 80% | 71% |
| M[9P]-14   | 90% | 83% |

Было обнаружено, что 23 обработанных образца, полученных из растительных композиций, содержащих 3, 5, 9 или 10 растений, обладают более высокой антибиопленочной и антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[2P]-3 (Таблица 4-3 А). Было обнаружено, что четыре обработанных образца, полученные из растительных композиций, содержащих 3, 4 или 10 растений, обладают более высокой антибиопленочной активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 4-3 В).

Средний процент ингибирования роста бактерий планктона и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 3 растения Mix[3P]-1 при разведении 1: 20, приведены в Таблице 4-4.

**Таблица 4-4: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемым штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[3P]-1 при разведении 1: 20 (А) Экстракты смесей, проявляющие более высокую антимикробную и антибиопленочную активность. (В) Экстракты смесей, проявляющие антибиопленочную активность и эквивалентную или более низкую антимикробную**

активность. (С) Экстракты смесей, проявляющие антимикробную активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность.

| (А)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[3P]-1  | 31%                           | 15%                                 |
| Mix[4P]-8  | 37%                           | 20%                                 |
| Mix[6P]-10 | 33%                           | 25%                                 |
| M[10P]-314 | 34%                           | 24%                                 |
| Mix[4P]-2  | 37%                           | 22%                                 |
| Mix[6P]-11 | 35%                           | 27%                                 |
| Mix[4P]-3  | 41%                           | 24%                                 |
| M[10P]-315 | 39%                           | 27%                                 |
| M[10P]-284 | 41%                           | 31%                                 |
| M[10P]-321 | 37%                           | 39%                                 |
| M[10P]-109 | 36%                           | 43%                                 |
| M[10P]-302 | 44%                           | 35%                                 |
| Mix[5P]-8  | 43%                           | 40%                                 |
| M[6P]-9    | 51%                           | 35%                                 |
| M[10P]-160 | 35%                           | 52%                                 |
| M[10P]-212 | 43%                           | 45%                                 |
| M[10P]-274 | 38%                           | 51%                                 |
| M[10P]-246 | 34%                           | 56%                                 |
| M[10P]-205 | 42%                           | 48%                                 |
| M[10P]-285 | 52%                           | 39%                                 |
| M[10P]-201 | 37%                           | 54%                                 |
| M[10P]-222 | 32%                           | 59%                                 |
| Mix[4P]-10 | 52%                           | 40%                                 |
| M[10P]-230 | 38%                           | 54%                                 |
| M[10P]-220 | 43%                           | 50%                                 |
| Mix[5P]-2  | 51%                           | 42%                                 |
| Mix[5P]-1  | 50%                           | 44%                                 |
| M[10P]-215 | 38%                           | 55%                                 |
| Mix[6P]-6  | 56%                           | 38%                                 |
| M[10P]-235 | 40%                           | 54%                                 |
| M[10P]-207 | 43%                           | 53%                                 |
| Mix[5P]-3  | 51%                           | 48%                                 |
| M[10P]-307 | 58%                           | 43%                                 |
| M[10P]-289 | 60%                           | 41%                                 |
| M[10P]-272 | 40%                           | 62%                                 |
| M[10P]-184 | 48%                           | 55%                                 |
| M[10P]-151 | 48%                           | 57%                                 |
| M[10P]-123 | 51%                           | 55%                                 |

| (В)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[3P]-1  | 31%                           | 15%                                 |
| Mix[3P]-6  | 16%                           | 20%                                 |
| Mix[4P]-9  | 30%                           | 21%                                 |
| Mix[3P]-9  | 19%                           | 23%                                 |
| M[10P]-282 | 24%                           | 26%                                 |
| Mix[3P]-5  | 29%                           | 36%                                 |
| M[10P]-269 | 14%                           | 37%                                 |
| M[10P]-278 | 18%                           | 40%                                 |
| M[10P]-219 | 30%                           | 42%                                 |
| M[10P]-255 | 20%                           | 43%                                 |
| M[10P]-270 | 15%                           | 43%                                 |
| M[10P]-251 | 13%                           | 44%                                 |
| M[10P]-258 | 20%                           | 44%                                 |
| M[10P]-209 | 21%                           | 45%                                 |
| M[10P]-221 | 17%                           | 49%                                 |
| M[10P]-253 | 21%                           | 49%                                 |
| M[10P]-252 | 18%                           | 50%                                 |
| M[10P]-257 | 18%                           | 51%                                 |
| M[10P]-242 | 29%                           | 54%                                 |

| (С)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[3P]-1  | 31%                           | 15%                                 |
| Mix[4P]-1  | 37%                           | 15%                                 |
| M[10P]-313 | 38%                           | 12%                                 |

|            |      |     |
|------------|------|-----|
| M[6P]-1    | 60%  | 50% |
| M[6P]-5    | 61%  | 51% |
| M[7P]-3    | 61%  | 54% |
| M[10P]-192 | 57%  | 60% |
| M[10P]-164 | 58%  | 59% |
| M[7P]-1    | 62%  | 57% |
| M[10P]-296 | 63%  | 60% |
| M[6P]-4    | 73%  | 51% |
| Mix[5P]-7  | 64%  | 60% |
| M[6P]-2    | 68%  | 57% |
| M[10P]-225 | 60%  | 66% |
| M[10P]-188 | 65%  | 61% |
| Mix[4P]-5  | 61%  | 66% |
| M[10P]-125 | 66%  | 62% |
| M[10P]-173 | 65%  | 67% |
| M[10P]-237 | 69%  | 63% |
| M[7P]-3    | 71%  | 64% |
| M[10P]-294 | 71%  | 65% |
| M[10P]-199 | 70%  | 69% |
| M[10P]-142 | 71%  | 69% |
| Mix[6P]-3  | 72%  | 68% |
| M[10P]-145 | 72%  | 69% |
| M[10P]-180 | 72%  | 70% |
| M[10P]-140 | 72%  | 71% |
| M[10P]-162 | 73%  | 70% |
| M[10P]-176 | 74%  | 70% |
| M[10P]-172 | 72%  | 73% |
| M[10P]-152 | 71%  | 74% |
| M[10P]-40  | 77%  | 68% |
| M[7P]-4    | 72%  | 76% |
| M[10P]-170 | 80%  | 74% |
| M[10P]-196 | 78%  | 77% |
| M[10P]-190 | 82%  | 76% |
| M[10P]-154 | 80%  | 79% |
| M[10P]-175 | 84%  | 77% |
| M[9P]-20   | 93%  | 81% |
| M[9P]-17   | 95%  | 84% |
| M[9P]-19   | 95%  | 86% |
| M[9P]-11   | 96%  | 91% |
| M[9P]-18   | 98%  | 89% |
| M[9P]-12   | 103% | 91% |
| M[9P]-15   | 106% | 88% |
| M[9P]-16   | 106% | 91% |

Было обнаружено, что 80 обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 4, 5, 6, 7, 9 или 10 растений, обладают более высокой антибиопленочной и

антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[3P]-1 (Таблица 4-4 А). Было обнаружено, что 18 обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 3, 4 или 10 растений, обладают более высокой антибиопленочной активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 4-4 В). Было обнаружено, что два обработанных образца, полученные из растительных композиций 4 и 10 растений, обладают более высокой антимикробной активностью и эквивалентной антибиопленочной активностью (Таблица 4-4 С).

### **Сравнительный Пример 2**

В качестве сравнительного Примера мы иллюстрируем несколько, 3 или 10 экстрактов смесей растений, полученных из растительных композиций, содержащих только одно растение из 3 растений Примера 1 (РА13, РА21, РВ12), которые, как было обнаружено, не обладают или обладают плохой антимикробной и антибиопленочной активностью против *Staphylococcus aureus*.

Десять растительных композиций, содержание которых указано в перечне 4-8, были приготовлены в соответствии с ранее описанным способом А.

### **Перечень 4-8: растительные композиции обработанных образцов**

М[3P]-31: РА21; РА05; РВ06;  
 М[3P]-35: РА21; РА76; РВ50;  
 М[3P]-37: РА21; РВ06; РВ50;  
 М[3P]-43: РВ12; РА05; РС34;  
 М[3P]-45: РВ12; РА76; РВ50;  
 М[10P]-65: РА01; РА08; РА25; РА29; РА37; РВ12; РВ50; РС15; РС37;  
 РД05;  
 М[10P]-70: РА10; РА16; РА21; РА25; РА37; РА75; РВ18; РВ45; РС04;  
 РС57;  
 М[10P]-72: РА08; РА21; РА62; РА70; РА85; РВ19; РВ31; РВ45; РВ49;  
 РС26;  
 М[10P]-89: РА10; РА13; РА18; РА19; РА37; РА41; РА75; РВ49; РС21;  
 РС67;  
 М[10P]-306: РА15; РА21; РА22; РА62; РА75; РВ18; РВ49; РВ85;  
 РС49; РС61;

Десять водных экстрактов (или обработанных образцов)

готовили, исходя из соответствующих растительных композиций.

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам для таких обработанных образцов при разведении 1: 20 определяли в соответствии с ранее описанным способом С и приведены в Таблице 4-5.

**Таблица 4-5: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанных образцов при разведении 1: 20**

|            | Ингибирование<br>роста планктона | Ингибирование<br>образования<br>биопленки |
|------------|----------------------------------|---|
| Mix[2P]-1  | 22%                              | 36%                                       |
| Mix[2P]-2  | 12%                              | -3%                                       |
| Mix[2P]-3  | 12%                              | 28%                                       |
| M[3P]-45   | -4%                              | -5%                                       |
| M[3P]-35   | 0%                               | -8%                                       |
| M[3P]-37   | 2%                               | -9%                                       |
| M[3P]-31   | 2%                               | -9%                                       |
| M[3P]-43   | 1%                               | -1%                                       |
| M[10P]-72  | 3%                               | 1%  |
| M[10P]-70  | 1%                               | 15%                                       |
| M[10P]-306 | 10%                              | 6%  |
| M[10P]-65  | 3%                               | 17%                                       |
| M[10P]-89  | 10%                              | 27%                                       |

Все исследуемые обработанные образцы, полученные из растительных композиций, состоящих из 3 или 10 растений, которые содержали одно растение из 3 растений Примера 1 (РА13, РА21, РВ12), продемонстрировали более низкую антимикробную активность, чем три экстракта смесей 2 растений эталонной Mix[2P]-1 (полученной из РА13 и РА21), Mix[2P]-2 (полученной из РА21 и РВ12) и Mix[2P]-3 (полученной из РА13 и РВ12), и более низкую антибиопленочную активность, чем Mix[2P]-1 и Mix[2P]-3.

#### **Пример 5**

В данном Примере мы иллюстрируем одновременную антимикробную и антибиопленочную активность против *Staphylococcus aureus* из 390 экстрактов смесей, полученных из растительных композиций, содержащих по меньшей мере 2 растения из 3 растений, описанных в Примере 1 (см. Таблицу 1-1), и

дополнительные растения для образования смесей из 9–20 растений.

Высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Pharmacie Fontgiève» (Клермон-Ферран, Франция, растения от PA00 до PB12) и «Pharmacie St Herem» (Клермон-Ферран, Франция, растения от PB13 до PD02).

Растительные композиции, содержащие от 9 до 20 растительных порошков, готовили в соответствии с ранее описанным способом А.

4 эталонные растительные композиции Mix[2P]-1, Mix[2P]-2, Mix[2P]-3, Mix[3P]-1 и 390 новых растительных композиций с составом, изображенным ниже (Перечень 5-3).

**Перечень 5-3: растительные композиции обработанных образцов**

Mix[2P]-1: PA13; PA21;  
 Mix[2P]-2: PA21; PB12;  
 Mix[2P]-3: PA13; PB12;  
 Mix[3P]-1: PA13; PA21; PB12;  
 M[09P]-1: PA13; PA14; PA20; PA21; PA23; PA67; PB12; PC27; PC60;  
 M[09P]-2: PA11; PA14; PA20; PA21; PA23; PA67; PB12; PC27; PC60;  
 M[09P]-3: PA11; PA13; PA20; PA21; PA23; PA67; PB12; PC27; PC60;  
 M[09P]-4: PA11; PA13; PA14; PA21; PA23; PA67; PB12; PC27; PC60;  
 M[09P]-6: PA11; PA13; PA14; PA20; PA23; PA67; PB12; PC27; PC60;  
 M[09P]-6: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA67; PB12; PC27; PC60;  
 M[09P]-7: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA23; PB12; PC27; PC60;  
 M[09P]-8: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA23; PA67; PC27; PC60;  
 M[09P]-9: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA23; PA67; PB12; PC60;  
 M[09P]-10: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA23; PA67; PB12; PC27;  
 M[09P]-21: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
 M[10P]-41: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
 PC20;  
 M[10P]-303: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21;  
 PB12; PC33;  
 M[11P]-1: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
 PC20; PA11;  
 M[11P]-2: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
 PC20; PA14;  
 M[11P]-3: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
 PC20; PA25;

M[11P]-4: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
PC20; PA26;

M[11P]-5: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
PC20; PA28;

M[11P]-6: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
PC20; PA29;

M[11P]-7: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
PC20; PA67;

M[11P]-8: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
PC20; PA75;

M[11P]-9: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
PC20; PC49;

M[11P]-10: PA13; PA20; PA21; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88;  
PC20; PC60;

M[11P]-11: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
PC33; PA39;

M[11P]-12: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13; PA13;  
PA13; PA21;

M[12P]-1: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
PC33; PA39; PA22;

M[12P]-2: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13; PA13;  
PA13; PA21; PA29;

M[13P]-1: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
PC33; PA39; PA22; PA20;

M[13P]-2: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13; PA13;  
PA13; PA21; PA29; PC20;

M[14P]-1: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
PC33; PA39; PA22; PA20; PC26;

M[14P]-2: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13; PA13;  
PA13; PA21; PA29; PC20; PC49;

M[15P]-1: PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA21; PA23; PA26; PA33;  
PB08; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[15P]-5: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
PC33; PA39; PA22; PA20; PC26; PC20;

M[16P]-1: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[16P]-2: PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39;  
PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[16P]-3: PA11; PA12; PA14; PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39;  
PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[16P]-5: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
PC33; PA39; PA22; PA20; PC26; PC20; PA12;

M[16P]-6: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13; PA13;  
PA13; PA21; PA29; PC20; PC49; PA14; PA14;

M[17P]-1: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[17P]-2: PA11; PA12; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21; PA22; PA29;  
PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[17P]-3: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA20; PA21; PA22; PA29;  
PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[17P]-5: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[17P]-4: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[17P]-6: PA10; PA11; PA14; PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00;  
PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[17P]-8: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13; PA13;  
PA13; PA21; PA29; PC20; PC49; PA14; PA14; PA22;

M[17P]-9: PA13; PA13; PA13; PC49; PC37; PA11; PA20; PA22; PA12;  
PC26; PB60; PA39; PC33; PC20; PA14; PA14; PA21;

M[18P]-1: PA10; PA11; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23; PA29; PA67;  
PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[18P]-2: PA11; PA11; PA12; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21; PA22;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-3: PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21; PA22;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-4: PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21; PA22;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-5: PA11; PA12; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21; PA22;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-6: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA20; PA21; PA22;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-7: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA21; PA22;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-9: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA22;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-9: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-10: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-11: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-12: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-13: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-14: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-15: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC33; PC37; PC49;

M[18P]-16: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC37; PC49;

M[18P]-17: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC49;

M[18P]-18: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37;

M[18P]-23: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[18P]-19: PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23; PA26; PA26;  
PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[18P]-20: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA21; PA23; PA26; PA26;  
PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[18P]-21: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[18P]-22: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[18P]-24: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[18P]-25: PA10; PA11; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23; PA29; PA67;  
PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[18P]-31: PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26; PA28; PA52;  
PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[18P]-33: PA11; PA11; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26; PA28; PA52;  
PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[18P]-34: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA26; PA26; PA28; PA52;  
PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[18P]-34: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA28; PA52;  
PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[18P]-35: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21; PB12;  
PC33; PA39; PA22; PA20; PC26; PC20; PA12; PA14; PA14;

M[18P]-36: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13; PA13;  
PA13; PA21; PA29; PC20; PC49; PA14; PA14; PA22; PA20;

M[18P]-37: PA13; PA13; PA13; PC49; PC37; PA11; PA20; PA22; PA12;  
PC26; PB60; PA39; PC33; PC20; PA14; PA14; PA21; PA29;

M[19P]-1: PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-2: PA11; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-3: PA11; PA13; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-4: PA11; PA13; PA14; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-5: PA11; PA13; PA14; PA20; PA25; PA26; PA28; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-6: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA26; PA28; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-7: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA28; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-8: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA29; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-9: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA67;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-10: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-11: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-12: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-13: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-14: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB12; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-15: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-16: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-17: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PC20; PC49; PC60;

M[19P]-18: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC49; PC60;

M[19P]-19: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC60;

M[19P]-20: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29;  
PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49;

M[19P]-21: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-22: PA10; PA11; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-23: PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[19P]-24: PA11; PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA20; PA21;  
PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[19P]-25: PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23; PA26;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-26: PA10; PA10; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23; PA26;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-27: PA10; PA10; PA11; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23; PA26;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-28: PA10; PA10; PA11; PA13; PA20; PA20; PA21; PA23; PA26;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-29: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA21; PA23; PA26;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-30: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA23; PA26;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-31: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA26;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-32: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-33: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-34: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PA33; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-35: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB60; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-36: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB88; PC12; PC20;

M[19P]-37: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PC12; PC20;

M[19P]-38: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC20;

M[19P]-39: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23;  
PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88; PC12;

M[19P]-40: PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-41: PA00; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-42: PA00; PA10; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-44: PA00; PA10; PA20; PA21; PA24; PA29; PA57; PB07; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-45: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA29; PA57; PB07; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-46: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA57; PB07; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-47: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PB07; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-48: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB12;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-49: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-50: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-51: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-52: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC51; PC55; PC67;

M[19P]-53: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC55; PC67;

M[19P]-54: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC67;

M[19P]-55: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07;  
PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55;

M[19P]-56: PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-57: PA10; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-58: PA10; PA11; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-59: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA18; PA21; PA23; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-60: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA21; PA23; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-62: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA23; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-62: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA29;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-63: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-64: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-65: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-66: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-67: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB07; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-68: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-69: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-70: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC52; PC60; PC71;

M[19P]-71: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC60; PC71;

M[19P]-72: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC71;

M[19P]-73: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21; PA23;  
PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60;

M[19P]-89: PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26; PA28;  
PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-91: PA11; PA11; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26; PA28;  
PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-92: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA26; PA26; PA28;  
PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-93: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA28;  
PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-93: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26;  
PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-95: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26;  
PA28; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-96: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26;  
PA28; PA52; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-96: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26;  
PA28; PA52; PA67; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-98: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26; PA26;  
PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB28; PB38; PB60; PC37; PC52;

M[19P]-100: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26;  
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB38; PB60; PC37;

PC52;

M[19P]-100: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26;  
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB60; PC37;  
PC52;

M[19P]-101: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26;  
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PC37;  
PC52;

M[19P]-102: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26;  
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60;  
PC52;

M[19P]-103: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26;  
PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60;  
PC37;

M[19P]-104: PC49; PC37; PA13; PA13; PA13; PA11; PA29; PA21;  
PB12; PC33; PA39; PA22; PA20; PC26; PC20; PA12; PA14; PA14;  
PB60;

M[19P]-105: PA11; PC37; PC33; PA39; PB60; PC26; PB12; PA13;  
PA13; PA13; PA21; PA29; PC20; PC49; PA14; PA14; PA22; PA20;  
PA12;

M[19P]-106: PA13; PA13; PA13; PC49; PC37; PA11; PA20; PA22;  
PA12; PC26; PB60; PA39; PC33; PC20; PA14; PA14; PA21; PA29;  
PB12;

M[20P]-29: PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA15; PA16; PA17; PA18;  
PA19; PA20; PA21; PA22; PA23; PA24; PA25; PA26; PA27; PA28;  
PA29;

M[20P]-240: PA21; PA24; PA26; PA33; PA37; PA39; PA67; PB00;  
PB10; PB12; PB26; PB28; PB33; PB82; PB88; PC20; PC21; PC52;  
PC60; PC97;

M[20P]-296: PA00; PA11; PA13; PA15; PA21; PA22; PA24; PA26;  
PA28; PA33; PA39; PA94; PB08; PB12; PB20; PB28; PB33; PB99;  
PC26; PC52;

M[20P]-297: PA10; PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26;  
PA29; PA33; PA57; PA67; PA69; PB07; PB12; PB60; PC20; PC37;  
PC49; PC98;

M[20P]-335: PA00; PA10; PA11; PA21; PA26; PA27; PA31; PA34;  
PA67; PA69; PA81; PA89; PB01; PB10; PB12; PB25; PB58; PC11;

PC86; PC97;

M[20P]-340: PA11; PA13; PA15; PA18; PA21; PA26; PA34; PA36;  
PA69; PA79; PA95; PB00; PB05; PB07; PB25; PB48; PB60; PC35;  
PC74; PC84;

M[20P]-349: PA10; PA11; PA13; PA16; PA20; PA33; PA69; PA94;  
PB07; PB08; PB12; PC01; PC27; PC28; PC49; PC50; PC53; PC55;  
PC60; PC67;

M[20P]-371: PA05; PA14; PA15; PA21; PA22; PA23; PA25; PA27;  
PA32; PA34; PA35; PA57; PA72; PA89; PB12; PB39; PB88; PC20;  
PC55; PC74;

M[20P]-374: PA06; PA13; PA21; PA24; PA25; PA26; PA27; PA57;  
PB12; PB24; PB28; PB29; PB35; PB38; PB61; PC11; PC37; PC54;  
PC74; PC86;

M[20P]-375: PA11; PA15; PA19; PA20; PA21; PA22; PA28; PA29;  
PA67; PA81; PB10; PB12; PB26; PB28; PC23; PC52; PC58; PC60;  
PC73; PC98;

M[20P]-377: PA07; PA10; PA11; PA13; PA14; PA21; PA22; PA24;  
PA29; PA32; PA33; PA35; PA57; PB10; PB28; PB36; PB82; PC49;  
PC52; PC94;

M[20P]-380: PA13; PA15; PA16; PA21; PA24; PA28; PA33; PA38;  
PA40; PA72; PB12; PB26; PB27; PB82; PC14; PC33; PC55; PC57;  
PC58; PC98;

M[20P]-382: PA00; PA12; PA13; PA16; PA21; PA24; PA25; PA26;  
PA28; PA29; PA35; PA57; PA75; PB33; PB88; PC14; PC24; PC36;  
PC58; PC66;

M[20P]-383: PA10; PA21; PA22; PA23; PA25; PA27; PA81; PA85;  
PB12; PB26; PB28; PB39; PB77; PB82; PC01; PC17; PC37; PC50;  
PC52; PC67;

M[20P]-386: PA13; PA14; PA28; PA29; PA33; PA35; PA40; PA57;  
PA67; PA79; PA88; PB00; PB01; PB07; PB12; PB33; PB77; PB85;  
PC50; PC66;

M[20P]-387: PA00; PA05; PA10; PA21; PA23; PA24; PA29; PA40;  
PA94; PA99; PB12; PB82; PB88; PB99; PC11; PC20; PC24; PC34;  
PC37; PC61;

M[20P]-388: PA12; PA13; PA14; PA15; PA20; PA21; PA26; PA29;  
PA35; PA40; PA67; PA89; PA98; PB12; PB33; PC01; PC14; PC58;

PC68; PC88;

M[20P]-392: PA11; PA14; PA21; PA23; PA26; PA29; PA30; PA57;  
PA81; PA85; PA94; PB03; PB07; PB12; PB29; PC33; PC51; PC53;  
PC71; PC73;

M[20P]-396: PA05; PA14; PA15; PA17; PA21; PA28; PA29; PA35;  
PA37; PA39; PA40; PA69; PA72; PA89; PB10; PB12; PC34; PC67;  
PC71; PC97;

M[20P]-401: PA13; PA15; PA16; PA23; PA26; PA29; PA33; PA34;  
PA85; PB12; PB26; PB33; PC21; PC50; PC52; PC53; PC55; PC58;  
PC67; PC71;

M[20P]-403: PA13; PA14; PA20; PA22; PA24; PA26; PA33; PA35;  
PB08; PB12; PB26; PB33; PB50; PB61; PC21; PC27; PC37; PC52;  
PC54; PC58;

M[20P]-407: PA20; PA21; PA22; PA25; PA29; PA48; PA51; PA57;  
PA67; PA75; PA94; PB07; PB12; PC21; PC34; PC41; PC51; PC53;  
PC55; PC97;

M[20P]-408: PA11; PA12; PA13; PA15; PA16; PA20; PA21; PA22;  
PA25; PA26; PA27; PA28; PA29; PB10; PB26; PC20; PC21; PC24;  
PC25; PC58;

M[20P]-409: PA10; PA15; PA21; PA28; PA35; PA69; PA89; PA94;  
PA98; PB07; PB12; PB28; PB35; PB36; PC11; PC23; PC49; PC52;  
PC73; PC98;

M[20P]-416: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28;  
PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20;  
PC49; PC60;

M[20P]-418: PA10; PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA23; PA24;  
PA26; PA39; PB07; PB12; PB38; PC11; PC12; PC20; PC23; PC24;  
PC49; PC55;

M[20P]-420: PA10; PA14; PA21; PA22; PA23; PA29; PA30; PA33;  
PA37; PB01; PB12; PB26; PB33; PB99; PC20; PC21; PC36; PC37;  
PC73; PC98;

M[20P]-421: PA13; PA15; PA21; PA25; PA26; PA29; PA39; PA40;  
PA75; PA94; PB20; PB55; PB82; PC06; PC20; PC24; PC49; PC71;  
PC74; PC99;

M[20P]-422: PA10; PA11; PA13; PA18; PA21; PA23; PA25; PA29;  
PA33; PA57; PA70; PB01; PB07; PB12; PB88; PC11; PC27; PC33;

PC55; PC97;

M[20P]-427: PA06; PA13; PA15; PA21; PA24; PA25; PA27; PA29;  
PA33; PA75; PA98; PB00; PB28; PB60; PC11; PC20; PC26; PC50;  
PC55; PC74;

M[20P]-429: PA11; PA19; PA21; PA23; PA26; PA33; PA40; PA75;  
PB00; PB03; PB12; PB60; PC11; PC21; PC24; PC26; PC36; PC37;  
PC68; PC98;

M[20P]-430: PA00; PA07; PA13; PA23; PA26; PA27; PA34; PA40;  
PA75; PB07; PB12; PB18; PB28; PB88; PC20; PC41; PC66; PC67;  
PC71; PC97;

M[20P]-431: PA00; PA06; PA11; PA12; PA13; PA15; PA18; PA21;  
PA22; PA25; PA28; PA33; PA81; PB09; PB32; PB33; PB38; PC11;  
PC33; PC52;

M[20P]-432: PA12; PA14; PA19; PA21; PA24; PA26; PA33; PA67;  
PB05; PB09; PB12; PB28; PB32; PB46; PB60; PC20; PC49; PC58;  
PC71; PC73;

M[20P]-435: PA10; PA13; PA14; PA15; PA21; PA28; PA33; PA40;  
PA55; PA57; PB07; PB12; PB58; PB88; PB99; PC12; PC21; PC29;  
PC66; PC67;

M[20P]-439: PA10; PA13; PA16; PA21; PA24; PA27; PA29; PA34;  
PA40; PA60; PA75; PB12; PB27; PB35; PB38; PC25; PC26; PC36;  
PC51; PC55;

M[20P]-443: PA00; PA10; PA13; PA15; PA17; PA20; PA29; PA33;  
PA35; PA40; PB07; PB12; PB26; PB27; PB82; PC12; PC24; PC50;  
PC60; PD02;

M[20P]-444: PA11; PA13; PA14; PA18; PA21; PA24; PA28; PA39;  
PA40; PA57; PA60; PA67; PA88; PB20; PB85; PB88; PC06; PC52;  
PC57; PC58;

M[20P]-445: PA11; PA13; PA17; PA20; PA21; PA29; PA30; PA33;  
PA35; PA40; PA57; PB00; PB12; PB28; PB60; PC11; PC20; PC35;  
PC50; PC51;

M[20P]-446: PA13; PA15; PA16; PA21; PA22; PA23; PA25; PA26;  
PA27; PA29; PA39; PA67; PA75; PB12; PB26; PB27; PC36; PC49;  
PC60; PC98;

M[20P]-447: PA11; PA13; PA17; PA19; PA24; PA28; PA30; PA33;  
PA39; PA40; PA57; PA92; PB07; PB08; PB12; PB33; PB61; PB85;

PC58; PC94;  
 M[20P]-449: PA10; PA11; PA13; PA14; PA15; PA20; PA21; PA24;  
 PA28; PA40; PA67; PA75; PA95; PB12; PB20; PB35; PC14; PC20;  
 PC52; PC60;  
 M[20P]-453: PA10; PA13; PA15; PA18; PA21; PA25; PA29; PA34;  
 PA35; PA67; PA93; PB06; PB07; PB09; PB12; PB20; PB26; PB35;  
 PB99; PC55;  
 M[20P]-455: PA00; PA00; PA11; PA11; PA13; PA14; PA18; PA20;  
 PA25; PA28; PA33; PA70; PA75; PB00; PB12; PC20; PC23; PC26;  
 PC67; PC67;  
 M[20P]-456: PA14; PA21; PA33; PA34; PA39; PB00; PB07; PB07;  
 PB12; PB27; PB28; PB38; PB88; PC20; PC23; PC26; PC49; PC58;  
 PC67; PC71;  
 M[20P]-457: PA00; PA10; PA11; PA12; PA13; PA13; PA14; PA29;  
 PA29; PA57; PA67; PB02; PB07; PB09; PB12; PB38; PC11; PC60;  
 PC97; PC98;  
 M[20P]-458: PA10; PA11; PA11; PA13; PA13; PA18; PA21; PA26;  
 PA33; PA57; PA75; PA98; PB12; PB33; PB33; PB38; PB82; PC20;  
 PC55; PC73;  
 M[20P]-459: PA00; PA06; PA21; PA26; PA26; PA29; PA33; PA75;  
 PB10; PB10; PB12; PB18; PB32; PB85; PC20; PC24; PC49; PC55;  
 PC66; PC98;  
 M[20P]-461: PA06; PA21; PA29; PA29; PA33; PA33; PA39; PA57;  
 PA67; PB07; PB07; PB12; PB26; PB32; PB32; PB85; PC20; PC27;  
 PC52; PC58;  
 M[20P]-465: PA11; PA11; PA13; PA16; PA21; PA22; PA27; PA29;  
 PA33; PA69; PB07; PB26; PB28; PB32; PB77; PB88; PB88; PC23;  
 PC60; PC73;  
 M[20P]-467: PA00; PA06; PA21; PA21; PA23; PA26; PA33; PA33;  
 PA40; PA67; PB12; PB38; PB88; PC11; PC23; PC23; PC27; PC55;  
 PC71; PC97;  
 M[20P]-469: PA00; PA12; PA13; PA13; PA13; PA21; PA29; PA33;  
 PA33; PA34; PA57; PB07; PC11; PC11; PC20; PC23; PC23; PC55;  
 PC74; PC97;  
 M[20P]-470: PA13; PA14; PA21; PA21; PA22; PA23; PA24; PA24;  
 PA27; PA29; PA33; PA67; PA75; PB07; PB07; PB33; PB33; PB77;

PC37; PC52;  
 M[20P]-472: PA10; PA10; PA11; PA13; PA21; PA25; PA25; PA28;  
 PA33; PA39; PB07; PB12; PB88; PC12; PC12; PC20; PC20; PC24;  
 PC55; PC71;  
 M[20P]-474: PA00; PA13; PA20; PA21; PA26; PA28; PA29; PA33;  
 PA57; PA67; PA81; PA81; PA98; PB02; PB12; PB38; PB60; PB88;  
 PC11; PC20;  
 M[20P]-475: PA11; PA12; PA12; PA13; PA28; PA28; PA29; PA29;  
 PA32; PA52; PA52; PA75; PA81; PB12; PB20; PB33; PB60; PC21;  
 PC49; PC51;  
 M[20P]-478: PA15; PA16; PA21; PA21; PA21; PA23; PA25; PA32;  
 PA34; PA39; PB12; PB77; PB85; PB88; PB88; PB88; PB88; PC11;  
 PC33; PC37;  
 M[20P]-479: PA10; PA11; PA13; PA13; PA18; PA20; PA21; PA28;  
 PA32; PA40; PA67; PA69; PB07; PB07; PB10; PB12; PB20; PC55;  
 PC60; PC98;  
 M[20P]-480: PA00; PA06; PA13; PA22; PA23; PA26; PA26; PA27;  
 PA29; PA40; PA81; PB07; PB10; PB10; PB12; PB12; PB18; PB32;  
 PC49; PC71;  
 M[20P]-481: PA11; PA13; PA26; PA29; PA29; PA35; PA69; PA75;  
 PA75; PB02; PB12; PB33; PC20; PC23; PC23; PC37; PC41; PC50;  
 PC52; PC98;  
 M[20P]-482: PA06; PA10; PA11; PA11; PA11; PA13; PA13; PA13;  
 PA14; PA14; PA20; PA25; PA26; PA28; PA39; PA67; PB12; PC11;  
 PC24; PC74;  
 M[20P]-484: PA11; PA13; PA23; PA28; PA29; PA29; PA35; PA39;  
 PA40; PA60; PA75; PA98; PB02; PB12; PB38; PB38; PB82; PC20;  
 PC35; PC50;  
 M[20P]-485: PA13; PA14; PA14; PA21; PA21; PA21; PA26; PA26;  
 PA26; PA26; PA29; PA29; PA52; PA57; PB00; PC11; PC11; PC21;  
 PC51; PC67;  
 M[20P]-486: PA11; PA13; PA23; PA24; PA35; PA35; PA35; PA69;  
 PA69; PA75; PB07; PB12; PB27; PC20; PC20; PC21; PC23; PC50;  
 PC55; PC73;  
 M[20P]-490: PA10; PA11; PA11; PA14; PA21; PA24; PA26; PA26;  
 PA39; PA40; PA69; PA75; PB00; PB01; PB12; PB12; PB18; PB28;

PB60; PC20;  
 M[20P]-493: PA06; PA14; PA20; PA21; PA21; PA28; PA29; PA33;  
 PA69; PA81; PA98; PB12; PB38; PB60; PC11; PC12; PC49; PC55;  
 PC71; PD02;  
 M[20P]-494: PA06; PA10; PA11; PA11; PA13; PA13; PA15; PA23;  
 PA26; PA35; PB01; PB12; PB60; PC12; PC20; PC37; PC41; PC49;  
 PC49; PC52;  
 M[20P]-495: PA10; PA10; PA13; PA14; PA18; PA20; PA21; PA26;  
 PA29; PA29; PA57; PB02; PC11; PC11; PC20; PC20; PC24; PC33;  
 PC49; PC49;  
 M[20P]-496: PA00; PA18; PA21; PA24; PA26; PA27; PA29; PA39;  
 PA39; PA52; PA69; PA70; PA98; PB00; PB02; PB12; PC12; PC24;  
 PC55; PC67;  
 M[20P]-497: PA11; PA11; PA13; PA13; PA15; PA21; PA23; PA24;  
 PA25; PA26; PA28; PA39; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28;  
 PC12; PC37;  
 M[20P]-499: PA13; PA21; PA21; PA21; PA29; PA30; PA69; PA75;  
 PB07; PB07; PB07; PB60; PC20; PC20; PC21; PC37; PC37; PC49;  
 PC55; PD02;  
 M[20P]-503: PA06; PA06; PA10; PA10; PA13; PA13; PA20; PA21;  
 PA25; PA26; PA29; PA33; PA39; PA70; PB28; PC11; PC20; PC23;  
 PC49; PC97;  
 M[20P]-506: PA11; PA16; PA21; PA23; PA29; PA39; PA57; PB12;  
 PB27; PB32; PB88; PB88; PB88; PC12; PC20; PC21; PC37; PC71;  
 PD02; PD02;  
 M[20P]-510: PA13; PA21; PA25; PA26; PA27; PA33; PA39; PA40;  
 PA69; PA81; PB01; PB28; PB60; PB85; PB88; PC27; PC41; PC41;  
 PC50; PC55;  
 M[20P]-514: PA11; PA12; PA13; PA13; PA21; PA21; PA28; PA29;  
 PA33; PA35; PA39; PA40; PA40; PA67; PA67; PB12; PC14; PC20;  
 PC41; PC55;  
 M[20P]-516: PA07; PA10; PA13; PA14; PA17; PA21; PA28; PA29;  
 PA39; PA40; PA40; PA69; PB07; PB12; PC21; PC21; PC27; PC37;  
 PD02; PD02;  
 M[20P]-520: PA11; PA11; PA12; PA13; PA14; PA15; PA29; PA33;  
 PA33; PA57; PA67; PA70; PA98; PB12; PC20; PC23; PC33; PC52;

PC55; PD02;  
 M[20P]-523: PA10; PA11; PA18; PA20; PA21; PA33; PA39; PA67;  
 PA67; PA69; PB07; PB12; PB28; PB88; PB88; PC21; PC33; PC35;  
 PC49; PC50;  
 M[20P]-524: PA00; PA11; PA11; PA12; PA13; PA20; PA29; PA40;  
 PB07; PB12; PB28; PB38; PB60; PB60; PB77; PC20; PC20; PC49;  
 PC49; PC98;  
 M[20P]-525: PA11; PA11; PA13; PA15; PA21; PA26; PA26; PA27;  
 PA28; PA29; PA29; PA30; PA40; PA52; PA75; PB07; PB07; PC11;  
 PC33; PC37;  
 M[20P]-527: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21;  
 PA23; PA26; PA26; PA26; PA33; PB08; PB12; PB12; PB60; PB88;  
 PC12; PC20;  
 M[20P]-532: PA14; PA20; PA20; PA21; PA22; PA25; PA26; PA27;  
 PA28; PA29; PA33; PA40; PA75; PB00; PB12; PB12; PB60; PB85;  
 PC12; PC51;  
 M[20P]-533: PA13; PA21; PA26; PA27; PA27; PA28; PA32; PA60;  
 PA70; PA75; PB18; PB32; PB38; PC23; PC41; PC50; PC50; PC51;  
 PC52; PC97;  
 M[20P]-535: PA11; PA21; PA26; PA28; PA29; PA29; PA29; PA34;  
 PA57; PB07; PB12; PB12; PB12; PB33; PB60; PC20; PC20; PC51;  
 PC55; PC67;  
 M[20P]-536: PA00; PA10; PA11; PA12; PA12; PA13; PA14; PA23;  
 PA29; PA29; PA35; PA40; PA81; PB07; PB07; PB12; PB27; PB33;  
 PB60; PC20;  
 M[20P]-538: PA21; PA23; PA25; PA26; PA27; PA28; PA75; PB07;  
 PB12; PB27; PB32; PB88; PC11; PC11; PC12; PC20; PC33; PC49;  
 PC55; PC97;  
 M[20P]-541: PA10; PA11; PA13; PA20; PA24; PA28; PA29; PA67;  
 PA70; PB10; PB12; PB77; PC20; PC20; PC23; PC41; PC51; PC52;  
 PC52; PC97;  
 M[20P]-548: PA10; PA13; PA14; PA14; PA22; PA27; PA27; PA28;  
 PA29; PA29; PA33; PA39; PB10; PB12; PB60; PB88; PC20; PC37;  
 PC50; PC55;  
 M[20P]-551: PA12; PA13; PA13; PA20; PA22; PA23; PA24; PA24;  
 PA26; PA33; PA33; PA39; PA67; PB07; PB07; PB12; PB33; PC20;

PC55; PC98;  
 M[20P]-552: PA06; PA11; PA11; PA13; PA14; PA14; PA20; PA21;  
 PA21; PA21; PA24; PA35; PB00; PB02; PB12; PB60; PB60; PC12;  
 PC21; PC98;  
 M[20P]-555: PA00; PA10; PA11; PA18; PA20; PA20; PA21; PA25;  
 PA26; PA26; PA39; PA39; PA39; PA89; PB12; PB12; PC20; PC20;  
 PC49; PC74;  
 M[20P]-557: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57;  
 PB07; PB12; PB12; PB12; PB12; PC11; PC11; PC12; PC20; PC51;  
 PC55; PC67;  
 M[20P]-559: PA00; PA11; PA12; PA13; PA20; PA22; PA24; PA25;  
 PA25; PA26; PA28; PA57; PA70; PA70; PB07; PB12; PB88; PB88;  
 PC11; PC60;  
 M[20P]-560: PA10; PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA25;  
 PA28; PA28; PA29; PA67; PB12; PB38; PB60; PC24; PC35; PC41;  
 PC51; PC97;  
 M[20P]-563: PA12; PA13; PA20; PA20; PA21; PA24; PA25; PA25;  
 PA29; PA29; PA33; PA81; PB33; PB60; PB60; PB88; PB88; PB88;  
 PC11; PC41;  
 M[20P]-564: PA07; PA13; PA13; PA21; PA26; PA37; PA39; PA67;  
 PA67; PB02; PB07; PB07; PB12; PB12; PB28; PC12; PC37; PC97;  
 PC97; PC97;  
 M[20P]-565: PA07; PA11; PA13; PA20; PA29; PA29; PA32; PA75;  
 PA95; PA98; PB02; PB12; PB32; PB33; PB60; PB85; PC20; PC24;  
 PC35; PC41;  
 M[20P]-567: PA10; PA13; PA14; PA16; PA21; PA26; PA28; PA75;  
 PA81; PB07; PB07; PB12; PB88; PC23; PC24; PC24; PC33; PC52;  
 PC55; PC67;  
 M[20P]-569: PA13; PA14; PA21; PA26; PA27; PA39; PA57; PA67;  
 PB02; PB07; PB12; PB28; PC12; PC21; PC49; PC55; PC55; PC67;  
 PC67; PC98;  
 M[20P]-572: PA13; PA14; PA21; PA27; PA29; PA33; PA67; PA69;  
 PA79; PB00; PB01; PB12; PB33; PB38; PC37; PC41; PC49; PC51;  
 PC55; PD02;  
 M[20P]-573: PA10; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA18; PA21;  
 PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52;

PC60; PC71;  
 M[20P]-574: PA13; PA21; PA22; PA23; PA25; PA29; PA35; PA67;  
 PB01; PB12; PB12; PB35; PB88; PC24; PC37; PC37; PC51; PC52;  
 PC52; PC66;  
 M[20P]-575: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14; PA26;  
 PA26; PA28; PA52; PA67; PB00; PB12; PB27; PB28; PB38; PB60;  
 PC37; PC52;  
 M[20P]-576: PA11; PA11; PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA14;  
 PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33;  
 PC37; PC49;  
 M[20P]-577: PA06; PA13; PA13; PA14; PA22; PA22; PA23; PA26;  
 PA28; PA69; PA70; PB07; PB12; PB12; PB32; PC12; PC20; PC24;  
 PC24; PC98;  
 M[20P]-579: PA12; PA13; PA13; PA13; PA14; PA26; PA26; PA28;  
 PA57; PA81; PB02; PB07; PB12; PC11; PC12; PC20; PC51; PC55;  
 PD02; PD02;  
 M[20P]-580: PA00; PA11; PA12; PA13; PA20; PA21; PA21; PA25;  
 PA26; PA26; PA33; PA75; PA75; PA75; PB28; PB88; PC20; PC76;  
 PC98; PC98;  
 M[20P]-581: PA10; PA11; PA13; PA21; PA22; PA25; PA29; PA67;  
 PB07; PB60; PB88; PB88; PC20; PC21; PC24; PC37; PC41; PC55;  
 PC66; PC98;  
 M[20P]-582: PA10; PA11; PA12; PA13; PA20; PA21; PA23; PA25;  
 PA39; PA75; PB07; PB07; PB38; PB38; PB60; PB60; PC20; PC24;  
 PC41; PC66;  
 M[20P]-583: PA11; PA13; PA14; PA23; PA25; PA25; PA26; PA26;  
 PA28; PA67; PB12; PB18; PB88; PC24; PC24; PC37; PC41; PC49;  
 PC55; PC60;  
 M[20P]-584: PA00; PA14; PA21; PA26; PA26; PA28; PA39; PA39;  
 PA67; PA75; PB12; PB12; PB27; PB33; PB60; PC11; PC41; PC49;  
 PC55; PC97;  
 M[20P]-588: PA07; PA13; PA14; PA21; PA26; PA26; PA26; PA26;  
 PA32; PA67; PA67; PA75; PB12; PB27; PB33; PB60; PC20; PC20;  
 PC23; PC24;  
 M[20P]-589: PA13; PA13; PA22; PA25; PA25; PA27; PA29; PA29;  
 PA35; PA39; PA52; PA75; PB12; PB32; PB38; PB85; PB88; PC11;

PC23; PC98;  
 M[20P]-590: PA11; PA13; PA13; PA14; PA25; PA29; PA33; PA35;  
 PA35; PA35; PA39; PB02; PB12; PC11; PC20; PC20; PC21; PC27;  
 PC55; PC55;  
 M[20P]-592: PA10; PA10; PA11; PA11; PA13; PA14; PA21; PA21;  
 PA26; PA26; PA27; PA29; PA30; PA75; PB07; PB07; PB12; PB38;  
 PC20; PC24;  
 M[20P]-594: PA13; PA21; PA21; PA21; PA23; PA27; PA28; PA39;  
 PA60; PA69; PA70; PB02; PB09; PB12; PB12; PB88; PC24; PC49;  
 PC97; PC98;  
 M[20P]-595: PA11; PA13; PA22; PA23; PA25; PA28; PA28; PA28;  
 PA29; PA29; PA39; PA67; PA69; PB12; PB60; PC12; PC20; PC24;  
 PC49; PC55;  
 M[20P]-596: PA11; PA11; PA13; PA13; PA14; PA21; PA22; PA23;  
 PA26; PA26; PA67; PB12; PB60; PC11; PC20; PC20; PC37; PC50;  
 PC55; PC60;  
 M[20P]-599: PA13; PA13; PA14; PA16; PA26; PA29; PA75; PA75;  
 PB07; PB12; PB60; PB60; PB60; PB60; PC12; PC20; PC20; PC37;  
 PC37; PC52;  
 M[20P]-601: PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA23; PA26; PA29;  
 PA29; PA35; PB02; PB10; PB12; PB33; PC20; PC21; PC41; PC49;  
 PC60; PC67;  
 M[20P]-602: PA00; PA10; PA10; PA14; PA14; PA14; PA21; PA25;  
 PA26; PA29; PA29; PB07; PB07; PB07; PB12; PB12; PC20; PC52;  
 PC55; PD02;  
 M[20P]-603: PA11; PA13; PA16; PA20; PA21; PA23; PA23; PA26;  
 PA26; PA28; PA33; PA39; PA39; PA67; PB60; PB60; PC20; PC23;  
 PC49; PC55;  
 M[20P]-604: PA10; PA13; PA14; PA14; PA18; PA21; PA22; PA23;  
 PA26; PA28; PA28; PA29; PB12; PB33; PC11; PC11; PC51; PC51;  
 PC60; PC71;  
 M[20P]-605: PA11; PA11; PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA20;  
 PA25; PA29; PA39; PA39; PA69; PA81; PB07; PB12; PB88; PC20;  
 PC41; PC55;  
 M[20P]-607: PA10; PA11; PA11; PA13; PA13; PA13; PA22; PA22;  
 PA26; PA33; PA35; PA75; PA75; PA81; PB12; PB88; PC20; PC49;

PC55; PC97;  
 M[20P]-608: PA00; PA13; PA13; PA13; PA18; PA26; PA27; PA29;  
 PA35; PA57; PA69; PA75; PA98; PB12; PB60; PC11; PC20; PC20;  
 PC55; PC60;  
 M[20P]-609: PA11; PA14; PA21; PA22; PA23; PA26; PA34; PA52;  
 PA67; PA69; PA69; PB07; PB12; PB12; PB27; PB77; PC12; PC20;  
 PC55; PC97;  
 M[20P]-612: PA11; PA13; PA14; PA14; PA14; PA21; PA22; PA23;  
 PA52; PA81; PB00; PB07; PB12; PB33; PB38; PB60; PC12; PC24;  
 PC33; PC37;  
 M[20P]-613: PA10; PA13; PA13; PA14; PA21; PA21; PA22; PA23;  
 PA26; PA28; PA28; PA29; PB12; PB12; PB27; PB60; PC20; PC21;  
 PC21; PC60;  
 M[20P]-616: PA13; PA26; PA28; PA29; PA39; PA57; PA67; PB07;  
 PB12; PB38; PB60; PB77; PB77; PB88; PC33; PC49; PC52; PC52;  
 PC98; PC98;  
 M[20P]-618: PA11; PA12; PA13; PA13; PA14; PA20; PA21; PA22;  
 PA23; PA26; PA29; PA67; PA79; PB88; PC11; PC20; PC20; PC37;  
 PC41; PC55;  
 M[20P]-620: PA12; PA13; PA20; PA22; PA22; PA23; PA26; PA26;  
 PA28; PA39; PA69; PA95; PB12; PB60; PB77; PC20; PC21; PC52;  
 PC60; PC98;  
 M[20P]-621: PA10; PA13; PA14; PA24; PA24; PA26; PA27; PA29;  
 PA32; PA35; PA67; PB12; PB12; PB12; PB27; PB33; PB33; PB38;  
 PB38; PB38;  
 M[20P]-622: PA10; PA12; PA14; PA14; PA15; PA20; PA21; PA26;  
 PA27; PA32; PA40; PB10; PB12; PB12; PB88; PC20; PC20; PC21;  
 PC52; PC60;  
 M[20P]-623: PA10; PA11; PA13; PA14; PA20; PA24; PA25; PA26;  
 PA26; PA28; PA39; PA81; PB09; PB12; PB28; PB88; PC24; PC41;  
 PC52; PC98;  
 M[20P]-626: PA11; PA11; PA13; PA13; PA20; PA21; PA21; PA25;  
 PA27; PA27; PA28; PA39; PA39; PA40; PA57; PB12; PB60; PC20;  
 PC37; PC41;  
 M[20P]-631: PA10; PA13; PA20; PA21; PA21; PA23; PA23; PA26;  
 PA29; PA39; PA39; PA67; PB10; PB38; PB60; PC11; PC20; PC37;

PC49; PC66;  
 M[20P]-632: PA10; PA11; PA18; PA21; PA22; PA23; PA28; PA29;  
 PA33; PA34; PA69; PB07; PB12; PB60; PC20; PC20; PC20; PC37;  
 PC41; PC55;  
 M[20P]-633: PA10; PA11; PA11; PA13; PA20; PA34; PA39; PB00;  
 PB07; PB12; PB12; PB60; PB88; PB88; PC11; PC12; PC23; PC35;  
 PC49; PC52;  
 M[20P]-634: PA13; PA13; PA13; PA21; PA22; PA22; PA25; PA25;  
 PA28; PA28; PA29; PA67; PA81; PB00; PB12; PB12; PB27; PB33;  
 PC11; PC98;  
 M[20P]-635: PA00; PA14; PA17; PA20; PA21; PA23; PA26; PA27;  
 PA75; PA81; PB00; PB12; PB82; PC11; PC20; PC26; PC51; PC52;  
 PC55; PC71;  
 M[20P]-638: PA00; PA14; PA17; PA21; PA22; PA24; PA28; PA33;  
 PA52; PA57; PA75; PB00; PB07; PB12; PB28; PB88; PC20; PC37;  
 PC41; PC97;  
 M[20P]-649: PA06; PA10; PA11; PA12; PA13; PA15; PA16; PA20;  
 PA24; PA30; PA33; PA98; PB10; PB12; PB28; PB32; PB60; PC11;  
 PC20; PC66;  
 M[20P]-654: PA00; PA11; PA15; PA20; PA21; PA26; PA32; PA34;  
 PA35; PA39; PA57; PB10; PB12; PB18; PC11; PC20; PC21; PC50;  
 PC55; PC66;  
 M[20P]-655: PA11; PA13; PA14; PA20; PA22; PA26; PA28; PA30;  
 PA40; PA52; PA57; PA81; PB12; PB32; PB85; PC41; PC50; PC55;  
 PC66; PC71;  
 M[20P]-658: PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA15; PA17; PA20;  
 PA21; PA28; PA29; PA52; PA67; PB10; PB12; PB18; PB60; PC20;  
 PC41; PC66;  
 M[20P]-659: PA00; PA11; PA21; PA22; PA24; PA26; PA27; PA28;  
 PA29; PA33; PA35; PA81; PB07; PB12; PB18; PB28; PB85; PC37;  
 PC49; PC74;  
 M[20P]-663: PA06; PA13; PA20; PA25; PA26; PA27; PA28; PA40;  
 PA67; PA81; PB00; PB12; PB18; PB33; PB61; PC20; PC24; PC37;  
 PC41; PC52;  
 M[20P]-666: PA06; PA13; PA21; PA23; PA27; PA28; PA30; PA40;  
 PA75; PB00; PB07; PB10; PB12; PB18; PB28; PB33; PC20; PC49;

PC52; PC71;

M[20P]-668: PA10; PA16; PA17; PA21; PA24; PA27; PA28; PA33;  
PA40; PA57; PA75; PA79; PB07; PB08; PB12; PB33; PB88; PC20;  
PC35; PC97;

M[20P]-670: PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA23; PA27; PA28;  
PA35; PA39; PA67; PA79; PA81; PA89; PB10; PB12; PB18; PC20;  
PC21; PC51;

M[20P]-678: PA06; PA11; PA12; PA13; PA21; PA23; PA29; PA35;  
PA39; PA40; PB00; PB07; PB10; PB12; PB33; PB60; PB77; PC11;  
PC67; PC76;

M[20P]-681: PA07; PA10; PA11; PA21; PA24; PA26; PA30; PA35;  
PA39; PA57; PA75; PB07; PB12; PB28; PB88; PC11; PC49; PC55;  
PC58; PC66;

M[20P]-686: PA00; PA10; PA13; PA22; PA24; PA27; PA28; PA33;  
PA39; PA40; PA69; PB12; PB32; PB38; PB85; PB88; PC20; PC55;  
PC60; PC66;

M[20P]-692: PA07; PA10; PA13; PA21; PA22; PA26; PA34; PA39;  
PA40; PA81; PB12; PB18; PB32; PB33; PB88; PC35; PC37; PC52;  
PC55; PC76;

M[20P]-694: PA07; PA11; PA13; PA14; PA15; PA16; PA21; PA27;  
PA28; PA29; PA35; PA39; PA40; PA75; PB12; PB33; PB88; PC50;  
PC51; PC52;

M[20P]-697: PA00; PA13; PA16; PA19; PA21; PA22; PA25; PA27;  
PA28; PA39; PA79; PA81; PB00; PB12; PB32; PB60; PB99; PC51;  
PC58; PC76;

M[20P]-703: PA00; PA13; PA14; PA15; PA24; PA26; PA33; PA35;  
PA52; PA75; PA81; PB07; PB12; PB28; PB85; PC20; PC21; PC35;  
PC41; PD02;

M[20P]-705: PA11; PA13; PA30; PA33; PA40; PA67; PA75; PB07;  
PB12; PB28; PB35; PB88; PC20; PC21; PC24; PC35; PC37; PC41;  
PC50; PC55;

M[20P]-708: PA07; PA13; PA23; PA25; PA27; PA29; PA30; PA33;  
PA52; PA57; PA75; PB00; PB08; PB12; PB38; PB60; PB77; PC50;  
PC76; PD02;

M[20P]-709: PA11; PA13; PA17; PA20; PA21; PA23; PA26; PA27;  
PA28; PA40; PA69; PA81; PA92; PB00; PB07; PB12; PC20; PC41;

PC52; PC66;

M[20P]-712: PA12; PA13; PA15; PA20; PA22; PA26; PA27; PA29;  
PA35; PA52; PA81; PB07; PB10; PB12; PB33; PB88; PC11; PC20;  
PC41; PC52;

M[20P]-714: PA07; PA10; PA11; PA16; PA21; PA26; PA33; PA40;  
PA67; PA81; PA98; PB00; PB07; PB12; PB28; PC11; PC41; PC49;  
PC50; PC98;

M[20P]-716: PA11; PA13; PA15; PA19; PA22; PA26; PA33; PA37;  
PA39; PA57; PB07; PB12; PB28; PB33; PB88; PB99; PC14; PC23;  
PC35; PC67;

M[20P]-718: PA12; PA13; PA15; PA16; PA20; PA22; PA25; PA26;  
PA39; PA40; PA92; PB07; PB12; PB27; PB35; PB38; PB99; PC11;  
PC27; PC41;

M[20P]-721: PA19; PA20; PA21; PA24; PA25; PA27; PA29; PA30;  
PA55; PA57; PB12; PB32; PB58; PB60; PB88; PB99; PC41; PC50;  
PC60; PC67;

M[20P]-723: PA12; PA13; PA16; PA17; PA21; PA28; PA29; PA33;  
PA34; PA40; PA60; PA89; PB28; PB60; PB61; PC14; PC24; PC41;  
PC51; PC74;

M[20P]-724: PA13; PA23; PA25; PA35; PA57; PA67; PB07; PB12;  
PB32; PB33; PB88; PB99; PC12; PC20; PC23; PC49; PC50; PC66;  
PC67; PC94;

M[20P]-725: PA00; PA13; PA14; PA20; PA22; PA25; PA26; PA28;  
PA33; PA40; PA57; PA81; PB12; PB16; PB33; PB88; PC11; PC24;  
PC51; PC74;

M[20P]-733: PA11; PA13; PA15; PA21; PA28; PA30; PA33; PA40;  
PB12; PB32; PB33; PB99; PC11; PC12; PC20; PC60; PC73; PC74;  
PC94; PD02;

M[20P]-737: PA00; PA11; PA13; PA15; PA17; PA21; PA24; PA28;  
PA29; PA30; PA67; PB07; PB27; PB28; PB77; PC20; PC21; PC41;  
PC51; PC94;

M[20P]-740: PA11; PA13; PA14; PA15; PA22; PA23; PA28; PA33;  
PA39; PA57; PA75; PA89; PB02; PB12; PB28; PB33; PC12; PC21;  
PC24; PC55;

M[20P]-745: PA11; PA21; PA22; PA24; PA26; PA27; PA28; PA29;  
PA57; PA89; PB07; PB12; PB28; PB33; PC08; PC11; PC41; PC66;

PC67; PC98;  
 M[20P]-746: PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA33; PA39; PA40;  
 PA81; PB06; PB07; PB12; PB32; PB60; PC20; PC21; PC24; PC37;  
 PC50; PC55;  
 M[20P]-748: PA11; PA13; PA14; PA17; PA23; PA26; PA32; PA57;  
 PA60; PA81; PB07; PB12; PB28; PB32; PB33; PB85; PB99; PC20;  
 PC21; PC35;  
 M[20P]-752: PA11; PA13; PA18; PA26; PA28; PA29; PA33; PA35;  
 PA39; PA67; PA75; PB07; PB12; PB32; PB88; PB99; PC12; PC50;  
 PC54; PC62;  
 M[20P]-753: PA11; PA12; PA13; PA14; PA15; PA29; PA32; PA40;  
 PA57; PA81; PB00; PB12; PB33; PB60; PC20; PC21; PC49; PC52;  
 PC66; PD02;  
 M[20P]-757: PA11; PA13; PA21; PA22; PA23; PA27; PA34; PA35;  
 PA40; PA57; PA67; PB10; PB12; PB22; PB58; PC11; PC14; PC23;  
 PC55; PC98;  
 M[20P]-758: PA10; PA11; PA13; PA20; PA21; PA23; PA28; PA29;  
 PA30; PA40; PA69; PA75; PA81; PB12; PC06; PC20; PC41; PC52;  
 PC57; PC74;  
 M[20P]-764: PA11; PA13; PA22; PA29; PA35; PA40; PA57; PA73;  
 PA75; PA81; PB08; PB12; PB33; PB82; PC11; PC20; PC21; PC29;  
 PC41; PC52;  
 M[20P]-765: PA10; PA11; PA13; PA15; PA26; PA27; PA30; PA35;  
 PA40; PA89; PB12; PB22; PB58; PB60; PC34; PC37; PC55; PC58;  
 PC67; PD02;  
 M[20P]-766: PA11; PA13; PA17; PA22; PA24; PA25; PA29; PA30;  
 PA33; PA34; PA35; PA81; PA92; PB00; PB12; PB82; PC24; PC50;  
 PC74; PC97;  
 M[20P]-767: PA11; PA21; PA22; PA28; PA29; PA33; PA37; PB12;  
 PB60; PB85; PB88; PB99; PC14; PC20; PC21; PC41; PC51; PC55;  
 PC57; PC98;  
 M[20P]-771: PA10; PA11; PA13; PA14; PA22; PA26; PA27; PA28;  
 PA29; PA35; PA86; PA89; PB07; PB12; PB28; PB88; PB99; PC12;  
 PC21; PC50;  
 M[20P]-777: PA11; PA14; PA15; PA20; PA21; PA24; PA25; PA28;  
 PA29; PA33; PA75; PB12; PB85; PB99; PC21; PC51; PC55; PC62;

PC67; PD02;

M[20P]-779: PA15; PA19; PA20; PA21; PA22; PA23; PA24; PA25;  
PA29; PA30; PA57; PA67; PA75; PA89; PB07; PB12; PB32; PC20;  
PC51; PC74;

M[20P]-781: PA10; PA15; PA21; PA22; PA39; PA57; PA75; PB08;  
PB09; PB12; PB28; PB35; PB58; PB60; PC12; PC33; PC37; PC66;  
PC67; PC74;

M[20P]-782: PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA26; PA30;  
PA75; PA89; PA92; PB05; PB07; PB12; PB32; PB82; PB99; PC51;  
PC58; PC73;

M[20P]-785: PA16; PA17; PA21; PA28; PA29; PA30; PA32; PA33;  
PA55; PB07; PB12; PB77; PB85; PB88; PB99; PC12; PC20; PC35;  
PC67; PC98;

M[20P]-786: PA11; PA13; PA14; PA18; PA19; PA21; PA22; PA27;  
PA28; PA29; PA33; PA40; PA52; PA57; PA81; PB28; PC11; PC20;  
PC21; PC50;

M[20P]-787: PA10; PA11; PA13; PA22; PA23; PA35; PB07; PB12;  
PB22; PB85; PB99; PC11; PC20; PC41; PC49; PC52; PC53; PC55;  
PC73; PD02;

M[20P]-789: PA10; PA11; PA13; PA22; PA23; PA27; PA40; PA57;  
PA75; PA81; PB07; PB12; PB27; PB60; PB88; PC11; PC20; PC23;  
PC35; PC41;

M[20P]-791: PA10; PA11; PA13; PA15; PA21; PA33; PA35; PA40;  
PA57; PA69; PA85; PA98; PA99; PB07; PB12; PB20; PB99; PC12;  
PC20; PC58;

M[20P]-793: PA11; PA13; PA14; PA15; PA19; PA26; PA29; PA55;  
PA67; PA89; PB12; PB33; PB88; PC14; PC20; PC21; PC34; PC37;  
PC67; PC97;

M[20P]-794: PA21; PA23; PA28; PA29; PA34; PA35; PA57; PA75;  
PA81; PB07; PB12; PB18; PB32; PB58; PC11; PC14; PC41; PC55;  
PC62; PC74;

M[20P]-795: PA10; PA13; PA20; PA23; PA27; PA29; PA57; PA60;  
PA69; PB00; PB07; PB12; PB18; PB32; PB85; PB88; PC20; PC66;  
PC74; PD02;

M[20P]-803: PA11; PA13; PA15; PA22; PA25; PA26; PA29; PA30;  
PA33; PA40; PA75; PB07; PB12; PB28; PC21; PC23; PC34; PC55;

PC71; PC73;

M[20P]-804: PA11; PA12; PA13; PA20; PA22; PA23; PA30; PA33;  
PA34; PA79; PB12; PB18; PB58; PB60; PB85; PB88; PC20; PC50;  
PC67; PC68;

M[20P]-806: PA06; PA10; PA11; PA13; PA19; PA20; PA21; PA23;  
PA25; PA28; PA52; PA73; PA75; PA98; PB12; PB33; PB82; PB85;  
PB88; PC11;

M[20P]-816: PA11; PA13; PA19; PA25; PA28; PA29; PA33; PA57;  
PA81; PA89; PB00; PB10; PB12; PB26; PB28; PB99; PC11; PC12;  
PC76; PC97;

M[20P]-819: PA10; PA11; PA13; PA15; PA26; PA34; PA60; PA81;  
PA92; PB07; PB12; PB38; PB85; PC01; PC14; PC20; PC52; PC58;  
PC66; PC67;

M[20P]-823: PA00; PA11; PA12; PA13; PA14; PA17; PA27; PA29;  
PA40; PA60; PA75; PA79; PA89; PB07; PB12; PB99; PC20; PC52;  
PC66; PC71;

M[20P]-830: PA13; PA20; PA25; PA26; PA28; PA40; PA75; PA89;  
PB00; PB07; PB12; PB32; PB88; PC06; PC12; PC20; PC41; PC52;  
PC76; PC98;

M[20P]-831: PA11; PA15; PA21; PA25; PA33; PB12; PB28; PB32;  
PB33; PB38; PB60; PB77; PB88; PC20; PC23; PC35; PC37; PC49;  
PC58; PC66;

M[20P]-841: PA10; PA11; PA13; PA18; PA22; PA28; PA29; PA30;  
PA35; PA40; PA55; PA75; PB07; PB12; PB28; PB32; PB33; PC41;  
PC49; PC60;

M[20P]-844: PA11; PA15; PA21; PA24; PA26; PA29; PA33; PA40;  
PA69; PA81; PA98; PB12; PB28; PB61; PC49; PC67; PC71; PC73;  
PC74; PD02;

M[20P]-845: PA11; PA13; PA14; PA15; PA21; PA30; PA34; PA39;  
PA60; PA79; PA81; PA89; PB07; PB18; PC14; PC20; PC21; PC34;  
PC68; PC97;

M[20P]-846: PA11; PA13; PA25; PA27; PA29; PA32; PA33; PA35;  
PA37; PA39; PA40; PB08; PB12; PB33; PB88; PC24; PC41; PC52;  
PC58; PC62;

M[20P]-847: PA10; PA19; PA20; PA21; PA28; PA29; PA30; PA67;  
PA75; PA89; PB00; PB12; PB28; PB33; PB60; PC12; PC55; PC73;

PC74; PD02;

M[20P]-848: PA07; PA11; PA13; PA15; PA20; PA22; PA26; PA27;  
PA30; PA40; PA69; PA75; PB12; PB32; PB85; PB88; PC34; PC37;  
PC66; PC68;

M[20P]-849: PA00; PA13; PA25; PA27; PA28; PA29; PA34; PA40;  
PA57; PA81; PB00; PB12; PB18; PB77; PC20; PC24; PC35; PC41;  
PC50; PC51;

M[20P]-852: PA00; PA11; PA13; PA15; PA19; PA22; PA26; PA35;  
PA89; PB00; PB12; PB58; PB77; PC12; PC20; PC29; PC62; PC71;  
PC94; PC98;

M[20P]-853: PA00; PA11; PA21; PA24; PA25; PA33; PA57; PA60;  
PB07; PB12; PB28; PB32; PB60; PB82; PB88; PC24; PC41; PC50;  
PC51; PC58;

M[20P]-857: PA00; PA11; PA13; PA26; PA28; PA75; PA76; PA79;  
PB12; PB28; PB60; PB88; PC11; PC12; PC20; PC37; PC50; PC52;  
PC67; PD02;

M[20P]-873: PA10; PA13; PA26; PA27; PA30; PA34; PA85; PA98;  
PB05; PB07; PB12; PB28; PB29; PB32; PB60; PC14; PC20; PC26;  
PC41; PC76;

M[20P]-880: PA11; PA13; PA17; PA20; PA22; PA24; PA26; PA27;  
PA29; PA38; PA57; PB07; PB12; PB20; PB29; PB97; PC24; PC37;  
PC51; PC71;

M[20P]-888: PA10; PA12; PA15; PA16; PA21; PA27; PA28; PA33;  
PA44; PB00; PB12; PB13; PB27; PC11; PC20; PC51; PC58; PC73;  
PC75; PD02;

M[20P]-890: PA00; PA11; PA13; PA15; PA16; PA25; PA34; PA75;  
PA82; PA86; PB00; PB12; PB16; PB27; PB33; PC20; PC49; PC50;  
PC57; PC98;

M[20P]-894: PA12; PA18; PA21; PA24; PA26; PA27; PA34; PA57;  
PA67; PA82; PB01; PB12; PB33; PB76; PB98; PB99; PC11; PC24;  
PC33; PC83;

M[20P]-902: PA12; PA13; PA21; PA26; PA29; PA39; PA40; PA57;  
PA96; PB00; PB07; PB12; PB27; PC20; PC50; PC53; PC61; PC62;  
PC75; PC94;

M[20P]-904: PA06; PA13; PA20; PA23; PA25; PA27; PA35; PA46;  
PA52; PA60; PA81; PA90; PA97; PB03; PB12; PB57; PB99; PC20;

PC52; PC73;

M[20P]-907: PA00; PA07; PA14; PA21; PA24; PA25; PA45; PA75; PA83; PA97; PB12; PB26; PB32; PB60; PB92; PC06; PC20; PC35; PC37; PD02;

M[20P]-909: PA12; PA14; PA20; PA21; PA29; PA39; PA72; PA93; PB12; PB22; PB28; PB32; PC21; PC23; PC24; PC41; PC52; PC73; PC79; PD02.

Примечание: если в предыдущем и последующих аналогичных перечнях шифр растения встречается более одного раза в одной и той же растительной композиции, это означает, что использовалось более одной калиброванной ложки соответствующего измельченного высушенного растения.

Исходя из растительных композиций, перечисленных в Перечнях 6-3, соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 40 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием следующих штаммов *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923, ATCC 49476, ATCC 6538, ATCC 51740, ATCC 29213 и ATCC 14775 со следующими конечными разведениями обработанных образцов: 1:20, 1:63 и 1: 200.

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий планктона и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций, включая 2 растения Mix[2P]-1, при разведении 1: 20 приведены в Таблице 5-1.

**Таблица 5-1: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[2P]-1 при разведении 1: 20 (А) Экстракты смесей, проявляющие более высокую антимикробную и антибиопленочную активность. (В) Экстракты смесей, проявляющие антибиопленочную активность и эквивалентную или более низкую антимикробную активность. (С) Экстракты смесей, проявляющие антимикробную**

**активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность**

| <b>(А)</b> | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-1  | 22%                           | 36%                                 |
| M[20P]-563 | 26%                           | 40%                                 |
| M[20P]-495 | 25%                           | 43%                                 |
| M[20P]-631 | 27%                           | 42%                                 |
| M[20P]-465 | 24%                           | 50%                                 |
| M[20P]-408 | 26%                           | 50%                                 |
| M[09P]-8   | 31%                           | 48%                                 |
| M[19P]-13  | 31%                           | 50%                                 |
| M[18P]-12  | 40%                           | 50%                                 |
| M[20P]-581 | 40%                           | 50%                                 |
| M[20P]-469 | 40%                           | 55%                                 |
| M[20P]-485 | 43%                           | 52%                                 |
| M[20P]-427 | 37%                           | 66%                                 |
| M[20P]-582 | 51%                           | 54%                                 |
| M[20P]-431 | 44%                           | 65%                                 |
| M[20P]-618 | 54%                           | 57%                                 |
| M[20P]-580 | 61%                           | 59%                                 |
| M[20P]-421 | 53%                           | 70%                                 |
| M[20P]-499 | 60%                           | 67%                                 |
| M[20P]-525 | 86%                           | 77%                                 |
| M[20P]-29  | 105%                          | 93%                                 |

| <b>(В)</b> | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-1  | 22%                           | 36%                                 |
| M[20P]-723 | 11%                           | 40%                                 |
| M[20P]-786 | 20%                           | 40%                                 |
| M[20P]-737 | 22%                           | 40%                                 |
| M[20P]-340 | 11%                           | 40%                                 |
| M[20P]-382 | 13%                           | 41%                                 |
| M[20P]-444 | 18%                           | 42%                                 |
| M[20P]-603 | 12%                           | 42%                                 |
| M[20P]-470 | 19%                           | 42%                                 |
| M[20P]-503 | 12%                           | 46%                                 |
| M[19P]-67  | 18%                           | 49%                                 |
| M[20P]-533 | 21%                           | 50%                                 |
| M[20P]-845 | 16%                           | 51%                                 |
| M[20P]-377 | 21%                           | 51%                                 |
| M[20P]-510 | 7%                            | 55%                                 |

| <b>(С)</b> | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-1  | 22%                           | 36%                                 |
| M[17P]-9   | 27%                           | 29%                                 |
| M[18P]-37  | 29%                           | 36%                                 |

Было обнаружено, что 20 обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 9, 18, 19 или 20 растений, обладают более высокой антибиопленочной и антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[2P]-1 (Таблица 5-1 А). Было обнаружено, что четырнадцать экстрактов смесей из 20 растений обладают более высокой антибиопленочной

активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 5-1 В). Было обнаружено, что два обработанных образца, полученные из растительных композиций, содержащих 17 и 18 растений, имеют более высокую антимикробную активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность (Таблица 5-1 С).

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий планктона и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций, включая 2 растения Mix[2P]-2, при разведении 1: 20 приведены в Таблице 5-2.

**Таблица 5-2: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[2P]-2 при разведении 1: 20 (А) Экстракты смесей, проявляющие более высокую антимикробную и антибиопленочную активность. (В) Экстракты смесей, проявляющие антимикробную активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность.**

| <b>(А)</b> | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки | <b>(В)</b> | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[2P]-2  | 12%                           | -3%                                 | Mix[2P]-2  | 12%                           | -3%                                 |
| M[17P]-5   | 17%                           | 17%                                 | M[20P]-638 | 11%                           | 13%                                 |
| M[20P]-654 | 16%                           | 20%                                 | M[20P]-794 | 6%                            | 16%                                 |
| M[16P]-1   | 14%                           | 22%                                 | M[20P]-909 | 0%                            | 19%                                 |
| M[17P]-1   | 16%                           | 22%                                 | M[20P]-538 | 8%                            | 22%                                 |
| M[20P]-779 | 14%                           | 29%                                 | M[20P]-781 | 6%                            | 24%                                 |
| M[20P]-746 | 15%                           | 28%                                 | M[19P]-27  | 7%                            | 26%                                 |
| M[20P]-635 | 17%                           | 26%                                 | M[20P]-681 | 11%                           | 24%                                 |
| M[20P]-844 | 15%                           | 29%                                 | M[16P]-3   | 8%                            | 28%                                 |
| M[20P]-831 | 17%                           | 31%                                 | M[20P]-721 | 2%                            | 28%                                 |
| M[20P]-894 | 18%                           | 30%                                 | M[20P]-493 | 7%                            | 28%                                 |
| M[20P]-888 | 23%                           | 25%                                 | M[17P]-6   | 9%                            | 29%                                 |
| M[20P]-407 | 19%                           | 31%                                 | M[20P]-659 | 10%                           | 30%                                 |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[20P]-907 | 21% | 31% |
| M[20P]-335 | 19% | 33% |
| M[20P]-714 | 17% | 35% |
| M[20P]-668 | 15% | 38% |
| M[20P]-584 | 14% | 39% |
| M[20P]-777 | 16% | 37% |
| M[20P]-853 | 20% | 34% |
| M[20P]-785 | 16% | 39% |
| M[20P]-622 | 21% | 34% |
| M[09P]-2   | 17% | 39% |
| M[19P]-46  | 18% | 37% |
| M[20P]-387 | 13% | 43% |
| M[20P]-767 | 18% | 39% |
| M[18P]-23  | 24% | 33% |
| M[20P]-745 | 20% | 37% |
| M[20P]-478 | 22% | 36% |
| M[19P]-45  | 16% | 42% |
| M[19P]-49  | 19% | 40% |
| M[20P]-467 | 17% | 42% |
| M[20P]-396 | 21% | 38% |
| M[20P]-392 | 17% | 42% |
| M[19P]-44  | 20% | 42% |
| M[19P]-41  | 23% | 40% |
| M[19P]-48  | 18% | 46% |
| M[19P]-47  | 17% | 46% |
| M[20P]-490 | 20% | 44% |
| M[19P]-21  | 29% | 35% |
| M[20P]-632 | 24% | 40% |
| M[19P]-54  | 19% | 45% |
| M[20P]-461 | 19% | 46% |
| M[19P]-42  | 24% | 41% |
| M[20P]-506 | 17% | 49% |
| M[19P]-55  | 21% | 46% |
| M[20P]-459 | 26% | 42% |
| M[20P]-375 | 19% | 52% |
| M[19P]-2   | 26% | 49% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[20P]-409 | 10% | 30% |
| M[20P]-602 | 4%  | 31% |
| M[20P]-456 | 9%  | 31% |
| M[20P]-383 | 5%  | 32% |
| M[20P]-847 | 13% | 33% |
| M[20P]-496 | 6%  | 34% |
| M[19P]-51  | 10% | 34% |
| M[20P]-371 | 7%  | 36% |
| M[20P]-609 | 12% | 36% |
| M[19P]-52  | 9%  | 36% |
| M[19P]-50  | 12% | 36% |
| M[18P]-24  | 11% | 36% |
| M[19P]-53  | 10% | 40% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[19P]-40  | 28% | 48% |
| M[20P]-523 | 28% | 51% |
| M[20P]-420 | 34% | 56% |
| M[20P]-429 | 36% | 59% |
| M[20P]-535 | 45% | 55% |
| M[20P]-532 | 42% | 60% |
| M[20P]-432 | 54% | 72% |
| M[20P]-555 | 68% | 65% |
| M[20P]-240 | 67% | 78% |
| M[20P]-557 | 86% | 78% |

Было обнаружено, что 58 обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 9, 16, 17, 18, 19 или 20 растений, обладают более высокой антибиопленочной и антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[2P]-2 (Таблица 5-2 А). Было обнаружено, что 25 обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 16, 17, 19 или 20 растений, обладают более высокой антибиопленочной активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 5-2 В).

Средний процент ингибирования роста бактерий планктона и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций, включая 2 растения Mix[2P]-3 при разведении 1: 20, приведены в Таблице 5-3.

**Таблица 5-3: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[2P]-3 при разведении 1: 20 (А) Экстракты смесей, проявляющие более высокую антимикробную и антибиопленочную активность. (В) Экстракты смесей, проявляющие антимикробную активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность.**

|     |                      |                               |
|-----|----------------------|-------------------------------|
| (А) | Ингибировани         | Ингибировани                  |
|     | е роста<br>планктона | е<br>образования<br>биопленки |

|     |                      |                               |
|-----|----------------------|-------------------------------|
| (В) | Ингибировани         | Ингибировани                  |
|     | е роста<br>планктона | е<br>образования<br>биопленки |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| Mix[2P]-3  | 12% | 28% |
| M[20P]-649 | 16% | 29% |
| M[20P]-857 | 15% | 32% |
| M[20P]-703 | 13% | 36% |
| M[20P]-486 | 15% | 35% |
| M[20P]-766 | 13% | 37% |
| M[20P]-789 | 14% | 36% |
| M[20P]-725 | 14% | 37% |
| M[20P]-536 | 20% | 32% |
| M[20P]-753 | 14% | 38% |
| M[20P]-401 | 14% | 38% |
| M[20P]-765 | 14% | 38% |
| M[20P]-848 | 14% | 39% |
| M[20P]-782 | 14% | 40% |
| M[20P]-589 | 15% | 39% |
| M[20P]-607 | 14% | 40% |
| M[20P]-541 | 20% | 34% |
| M[20P]-447 | 15% | 39% |
| M[20P]-601 | 17% | 38% |
| M[20P]-494 | 13% | 43% |
| M[20P]-787 | 15% | 40% |
| M[20P]-748 | 15% | 41% |
| M[09P]-6   | 15% | 41% |
| M[20P]-480 | 18% | 38% |
| M[20P]-633 | 15% | 41% |
| M[20P]-849 | 14% | 42% |
| M[20P]-793 | 16% | 42% |
| M[18P]-9   | 17% | 41% |
| M[20P]-852 | 13% | 45% |
| M[20P]-819 | 20% | 39% |
| M[20P]-655 | 15% | 44% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| Mix[2P]-3  | 12% | 28% |
| M[20P]-599 | 11% | 32% |
| M[20P]-621 | 10% | 32% |
| M[20P]-740 | 12% | 33% |
| M[20P]-830 | 7%  | 33% |
| M[20P]-623 | 12% | 34% |
| M[20P]-708 | 8%  | 35% |
| M[20P]-880 | 12% | 35% |
| M[20P]-716 | 8%  | 35% |
| M[20P]-803 | 4%  | 36% |
| M[20P]-686 | 13% | 36% |
| M[20P]-663 | 5%  | 36% |
| M[20P]-873 | 7%  | 36% |
| M[20P]-608 | 10% | 37% |
| M[20P]-752 | 10% | 37% |
| M[20P]-443 | 8%  | 37% |
| M[19P]-30  | 3%  | 37% |
| M[20P]-712 | 12% | 37% |
| M[20P]-616 | 7%  | 38% |
| M[20P]-724 | 4%  | 38% |
| M[20P]-795 | 11% | 38% |
| M[20P]-403 | 13% | 38% |
| M[20P]-595 | 7%  | 38% |
| M[20P]-771 | 9%  | 39% |
| M[20P]-718 | 5%  | 39% |
| M[20P]-620 | 12% | 39% |
| M[20P]-841 | 6%  | 40% |
| M[20P]-804 | 8%  | 40% |
| M[20P]-386 | 6%  | 41% |
| M[20P]-764 | 11% | 42% |
| M[18P]-33  | 11% | 42% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[20P]-455 | 15% | 44% |
| M[20P]-846 | 16% | 44% |
| M[20P]-481 | 18% | 41% |
| M[20P]-484 | 17% | 42% |
| M[20P]-590 | 26% | 34% |
| M[20P]-890 | 19% | 42% |
| M[20P]-670 | 21% | 40% |
| M[20P]-705 | 23% | 39% |
| M[20P]-816 | 22% | 39% |
| M[19P]-91  | 15% | 48% |
| M[20P]-457 | 22% | 43% |
| M[20P]-551 | 24% | 41% |
| M[19P]-100 | 16% | 50% |
| M[20P]-583 | 23% | 43% |
| M[20P]-823 | 22% | 44% |
| M[19P]-100 | 16% | 50% |
| M[19P]-98  | 17% | 50% |
| M[19P]-101 | 14% | 54% |
| M[19P]-93  | 14% | 53% |
| M[19P]-102 | 13% | 54% |
| M[19P]-5   | 19% | 49% |
| M[19P]-89  | 17% | 51% |
| M[19P]-103 | 13% | 55% |
| M[19P]-96  | 18% | 52% |
| M[20P]-475 | 25% | 45% |
| M[20P]-548 | 30% | 42% |
| M[19P]-96  | 19% | 53% |
| M[20P]-605 | 22% | 50% |
| M[20P]-577 | 29% | 44% |
| M[20P]-482 | 27% | 46% |
| M[19P]-95  | 19% | 55% |
| M[20P]-    | 21% | 55% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[20P]-349 | 9%  | 43% |
| M[19P]-92  | 10% | 46% |
| M[18P]-34  | 11% | 47% |
| M[19P]-93  | 12% | 50% |
| M[18P]-31  | 12% | 51% |
| M[18P]-34  | 12% | 51% |
| M[19P]-62  | 10% | 56% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| 904        |     |     |
| M[20P]-559 | 32% | 47% |
| M[20P]-430 | 29% | 71% |
| M[20P]-520 | 62% | 67% |
| M[20P]-579 | 75% | 66% |
| M[20P]-560 | 72% | 70% |
| M[20P]-565 | 73% | 73% |
| M[20P]-524 | 81% | 79% |
| M[20P]-575 | 85% | 76% |

Было обнаружено, что 70 обработанных образцов, полученных из растительных композиций, содержащих 9, 19 или 20 растений, обладают более высокой антибиопленочной и антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[2P] -3 (Таблица 5-3 А). Было обнаружено, что 37 обработанных образцов, содержащих от 18 до 20 растений, обладают более высокой антибиопленочной активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 5-3 В).

Средний процент ингибирования роста бактерий планктона и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций, включая 3 растения Mix[3P]-1 при разведении 1: 20, приведены в Таблице 5-4.

**Таблица 5-4: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе Mix[3P]-1 при разведении 1: 20. (А) Экстракты смесей, проявляющие более высокую антимикробную и антибиопленочную активность. (В) Экстракты смесей, проявляющие антимикробную активность и эквивалентную или более низкую антибиопленочную активность.**

| (А)       | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[3P]-1 | 31%                           | 15%                                 |
| M[18P]-2  | 35%                           | 42%                                 |

| (В)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Mix[3P]-1  | 31%                           | 15%                                 |
| M[20P]-692 | 11%                           | 22%                                 |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[16P]-5   | 36% | 41% |
| M[14P]-2   | 34% | 44% |
| M[16P]-6   | 35% | 44% |
| M[09P]-9   | 33% | 47% |
| M[09P]-1   | 34% | 45% |
| M[18P]-7   | 35% | 45% |
| M[17P]-3   | 36% | 44% |
| M[09P]-7   | 35% | 49% |
| M[20P]-594 | 40% | 46% |
| M[09P]-6   | 37% | 51% |
| M[20P]-658 | 45% | 43% |
| M[19P]-3   | 34% | 54% |
| M[18P]-11  | 40% | 49% |
| M[19P]-104 | 43% | 46% |
| M[09P]-3   | 46% | 44% |
| M[09P]-4   | 46% | 45% |
| M[19P]-19  | 34% | 57% |
| M[18P]-13  | 42% | 50% |
| M[18P]-10  | 43% | 49% |
| M[18P]-9   | 42% | 51% |
| M[18P]-17  | 45% | 51% |
| M[20P]-634 | 43% | 56% |
| M[20P]-596 | 44% | 55% |
| M[18P]-15  | 47% | 52% |
| M[20P]-449 | 47% | 56% |
| M[09P]-10  | 54% | 50% |
| M[20P]-588 | 48% | 56% |
| M[20P]-458 | 50% | 56% |
| M[19P]-105 | 49% | 56% |
| M[13P]-2   | 51% | 56% |
| M[19P]-11  | 43% | 67% |
| M[18P]-16  | 54% | 59% |
| M[20P]-    | 55% | 60% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[20P]-612 | 6%  | 25% |
| M[18P]-22  | 4%  | 27% |
| M[20P]-388 | 9%  | 27% |
| M[20P]-380 | 12% | 28% |
| M[11P]-12  | 22% | 29% |
| M[19P]-33  | 8%  | 30% |
| M[19P]-35  | 6%  | 30% |
| M[17P]-2   | 12% | 30% |
| M[20P]-678 | 10% | 31% |
| M[19P]-22  | 17% | 31% |
| M[20P]-552 | 16% | 32% |
| M[17P]-4   | 9%  | 32% |
| M[20P]-806 | 12% | 32% |
| M[12P]-1   | 19% | 33% |
| M[14P]-1   | 18% | 33% |
| M[19P]-28  | 6%  | 33% |
| M[12P]-2   | 22% | 34% |
| M[18P]-1   | 16% | 34% |
| M[19P]-36  | 6%  | 34% |
| M[20P]-479 | 23% | 34% |
| M[15P]-1   | 23% | 34% |
| M[09P]-21  | 22% | 34% |
| M[20P]-446 | 10% | 34% |
| M[19P]-34  | 7%  | 34% |
| M[19P]-106 | 29% | 35% |
| M[10P]-41  | 8%  | 35% |
| M[13P]-1   | 22% | 35% |
| M[18P]-5   | 18% | 35% |
| M[19P]-39  | -1% | 35% |
| M[11P]-3   | 12% | 35% |
| M[20P]-439 | 19% | 36% |
| M[11P]-2   | 13% | 36% |
| M[18P]-    | 6%  | 36% |

|            |      |     |
|------------|------|-----|
| 569        |      |     |
| M[20P]-296 | 52%  | 62% |
| M[18P]-18  | 56%  | 61% |
| M[20P]-516 | 61%  | 68% |
| M[20P]-592 | 70%  | 71% |
| M[20P]-626 | 71%  | 71% |
| M[19P]-23  | 72%  | 72% |
| M[20P]-497 | 72%  | 77% |
| M[20P]-572 | 74%  | 78% |
| M[20P]-574 | 76%  | 79% |
| M[20P]-527 | 76%  | 80% |
| M[20P]-297 | 83%  | 81% |
| M[20P]-422 | 81%  | 83% |
| M[20P]-564 | 86%  | 82% |
| M[20P]-418 | 98%  | 87% |
| M[20P]-416 | 99%  | 89% |
| M[20P]-576 | 104% | 86% |
| M[20P]-573 | 104% | 93% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| 20         |     |     |
| M[20P]-757 | 18% | 36% |
| M[10P]-303 | 25% | 36% |
| M[11P]-11  | 29% | 37% |
| M[11P]-6   | 9%  | 37% |
| M[19P]-37  | 5%  | 37% |
| M[18P]-19  | 10% | 37% |
| M[18P]-4   | 29% | 37% |
| M[18P]-35  | 27% | 37% |
| M[18P]-25  | 11% | 37% |
| M[11P]-5   | 10% | 38% |
| M[20P]-694 | 20% | 38% |
| M[11P]-8   | 10% | 38% |
| M[11P]-9   | 11% | 38% |
| M[20P]-733 | 12% | 38% |
| M[11P]-7   | 10% | 38% |
| M[19P]-31  | 6%  | 38% |
| M[19P]-32  | 4%  | 38% |
| M[19P]-29  | 6%  | 38% |
| M[18P]-6   | 22% | 38% |
| M[20P]-374 | 2%  | 38% |
| M[11P]-4   | 12% | 39% |
| M[20P]-791 | 13% | 39% |
| M[20P]-758 | 15% | 39% |
| M[19P]-26  | 6%  | 39% |
| M[20P]-697 | 17% | 39% |
| M[19P]-38  | 4%  | 40% |
| M[19P]-24  | 28% | 40% |
| M[16P]-2   | 24% | 40% |
| M[18P]-21  | 9%  | 40% |
| M[15P]-5   | 29% | 40% |
| M[17P]-8   | 30% | 40% |
| M[20P]-613 | 8%  | 41% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[18P]-14  | 27% | 41% |
| M[20P]-604 | 14% | 41% |
| M[11P]-1   | 17% | 41% |
| M[18P]-36  | 29% | 41% |
| M[18P]-3   | 23% | 42% |
| M[20P]-453 | 5%  | 42% |
| M[19P]-25  | 9%  | 42% |
| M[20P]-709 | 18% | 42% |
| M[20P]-474 | 16% | 45% |
| M[20P]-666 | 22% | 45% |
| M[20P]-902 | 21% | 46% |
| M[20P]-435 | 15% | 46% |
| M[20P]-567 | 30% | 47% |
| M[19P]-4   | 24% | 47% |
| M[19P]-16  | 18% | 47% |
| M[19P]-59  | 10% | 48% |
| M[19P]-17  | 23% | 48% |
| M[19P]-58  | 20% | 49% |
| M[19P]-60  | 13% | 49% |
| M[19P]-15  | 27% | 50% |
| M[11P]-10  | 31% | 50% |
| M[19P]-14  | 27% | 50% |
| M[19P]-6   | 32% | 51% |
| M[20P]-445 | 21% | 51% |
| M[19P]-8   | 30% | 51% |
| M[19P]-18  | 21% | 52% |
| M[19P]-9   | 29% | 52% |
| M[19P]-7   | 30% | 52% |
| M[19P]-10  | 29% | 52% |
| M[19P]-68  | 23% | 53% |
| M[19P]-63  | 16% | 53% |
| M[19P]-69  | 22% | 53% |
| M[19P]-1   | 26% | 54% |
| M[19P]-66  | 24% | 54% |

|            |     |     |
|------------|-----|-----|
| M[19P]-12  | 26% | 54% |
| M[20P]-472 | 27% | 54% |
| M[19P]-20  | 31% | 54% |
| M[19P]-70  | 19% | 55% |
| M[19P]-62  | 17% | 56% |
| M[19P]-57  | 21% | 56% |
| M[19P]-65  | 27% | 57% |
| M[19P]-73  | 18% | 57% |
| M[20P]-514 | 30% | 58% |
| M[19P]-56  | 24% | 58% |
| M[19P]-64  | 27% | 59% |
| M[19P]-72  | 20% | 60% |
| M[19P]-71  | 19% | 61% |

Было обнаружено, что 51 обработанный образец, полученный из растительных композиций, содержащих 9, 16, 17, 18, 19 или 20 растений, обладает более высокой антибиопленочной и антимикробной активностью, чем эталонный экстракт смеси Mix[3P]-1 (Таблица 5-4 А). Было обнаружено, что 113 обработанных образцов, содержащих от 9 до 20 растений, обладают более высокой антибиопленочной активностью и эквивалентной или меньшей антимикробной активностью (Таблица 5-4 В).

### Сравнительный Пример 3

В качестве сравнительного Примера мы приводим несколько экстрактов смесей из 20 растений, содержащих только одно растение из 3 растений Примера 1 (РА13, РА21, РВ12), которые, как было обнаружено, не обладают или обладают слабой антимикробной и антибиопленочной активностью в отношении *Staphylococcus aureus*.

Десять растительных композиций, состав которых указан в Перечне 5-8, были приготовлены в соответствии с ранее описанным способом А.

**Перечень 5-8: растительные композиции обработанных образцов**  
M[20P]-39: РВ00; РВ01; РВ02; РВ03; РВ04; РВ05; РВ06; РВ07; РВ08;  
РВ09; РВ10; РВ11; РВ12; РВ13; РВ14; РВ15; РВ16; РВ17; РВ18;

PB19;

M[20P]-239: PA00; PA05; PA21; PA23; PA26; PA33; PA39; PA60;  
PA85; PB00; PB06; PB32; PB79; PC02; PC26; PC34; PC38; PC62;  
PC78; PC84;

M[20P]-337: PA00; PA10; PA11; PA15; PA18; PA21; PA22; PA24;  
PA26; PA28; PA52; PA94; PA98; PB10; PB20; PB26; PB29; PB82;  
PC67; PC97;

M[20P]-362: PA21; PA23; PA25; PA33; PA37; PA57; PA69; PA81;  
PA92; PB16; PB25; PB26; PB28; PB29; PB78; PC20; PC21; PC71;  
PC83; PD02;

M[20P]-364: PA15; PA21; PA25; PA28; PA39; PA75; PA80; PA85;  
PA89; PA98; PB01; PB06; PB24; PB28; PB35; PC24; PC25; PC57;  
PC75; PC82;

M[20P]-540: PA06; PA10; PA12; PA14; PA20; PA21; PA26; PA27;  
PA27; PA57; PA57; PA57; PA69; PB07; PB82; PC11; PC20; PC23;  
PC55; PC98;

M[20P]-647: PA10; PA11; PA24; PA26; PA28; PA33; PA35; PA40;  
PA57; PA69; PB00; PB07; PB12; PB28; PB33; PB38; PB60; PC55;  
PC67; PC97;

M[20P]-652: PA00; PA07; PA13; PA15; PA16; PA23; PA26; PA28;  
PA33; PA39; PA57; PA92; PB28; PB38; PC20; PC21; PC52; PC55;  
PC74; PC97;

M[20P]-862: PA11; PA15; PA18; PA21; PA25; PA27; PA28; PA29;  
PA35; PA38; PA52; PA86; PA89; PA92; PB07; PB28; PB88; PC11;  
PC55; PC98;

M[20P]-872: PA13; PA14; PA16; PA28; PA29; PA30; PA33; PA35;  
PA39; PA81; PA90; PA92; PB00; PB32; PC12; PC34; PC37; PC67;  
PC97; PD02.

Десять водных экстрактов (или обработанных образцов) готовили из соответствующих растительных композиций в соответствии с ранее описанным способом В, используя 40 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Для каждого обработанного образца биологическую активность определяли в соответствии с ранее описанным методом С со следующими конечными разведениями обработанных образцов: 1: 20,

1: 63 и 1: 200.

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов при разведении 1: 20 приведены в Таблице 5-5.

**Таблица 5-5: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанных образцов при разведении 1: 20.**

|            | Ингибирование<br>роста планктона | Ингибирование<br>образования<br>биопленки |
|------------|----------------------------------|---|
| Mix[2P]-1  | 22%                              | 36%                                       |
| Mix[2P]-2  | 12%                              | -3%                                       |
| Mix[2P]-3  | 12%                              | 28%                                       |
| M[20P]-362 | -1%                              | -6%                                       |
| M[20P]-364 | -5%                              | 6%  |
| M[20P]-039 | 1%                               | 6%  |
| M[20P]-862 | 5%                               | 2%  |
| M[20P]-337 | 0%                               | 9%  |
| M[20P]-872 | 2%                               | 11%                                       |
| M[20P]-540 | 5%                               | 10%                                       |
| M[20P]-652 | 9%                               | 7%  |
| M[20P]-239 | 9%                               | 7%  |
| M[20P]-647 | 9%                               | 9%  |

Все исследуемые обработанные образцы, полученные из растительных композиций, содержащих 20 растений, в том числе только одно растение из 3 растений Примера 1 (РА13, РА21, РВ12), продемонстрировали более низкую антимикробную активность, чем три экстракта смесей 2 растений эталонной Mix[2P]-1 (полученной из РА13 и РА21), Mix[2P]-2 (полученной из РА21 и РВ12) и Mix[2P]-3 (полученной из РА13 и РВ12) и более низкую антибиопленочную активность, чем Mix[2P]-1 и Mix[2P]-3.

#### Пример 6

В данном примере мы сообщаем об одновременной антимикробной

и антибиопленочной активности против *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus pseudintermedius* для 2 обработанных образцов, выбранных из лучших смесей, описанных в Примерах 4 и 5.

Высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Pharmacie Fontgiève» (Клермон-Ферран, Франция) и «Pharmacie St Herem» (Клермон-Ферран, Франция).

Два растительных препарата, содержащие высушенные растительные порошки, приведенные в Таблице 6-1 ниже, были приготовлены в соответствии с ранее описанным способом А.

**Таблица 6-1**

| <b>Растительные композиции</b> | <b>М[20P]-576</b> | <b>М[10P]-154</b> |
|--------------------------------|-------------------|-------------------|
| Растение 1                     | 2 ложки PA11      | 1 ложка PA11      |
| Растение 2                     | 1 ложка PA12      | 1 ложка PA12      |
| Растение 3                     | 3 ложки PA13      | 1 ложка PA13      |
| Растение 4                     | 2 ложки PA14      | 1 ложка PA21      |
| Растение 5                     | 1 ложка PA20      | 1 ложка PA22      |
| Растение 6                     | 1 ложка PA21      | 1 ложка PA79      |
| Растение 7                     | 1 ложка PA22      | 1 ложка PB12      |
| Растение 8                     | 1 ложка PA29      | 1 ложка PB49      |
| Растение 9                     | 1 ложка PA39      | 1 ложка PC29      |
| Растение 10                    | 1 ложка PB12      | 1 ложка PC63      |
| Растение 11                    | 1 ложка PB60      |                   |
| Растение 12                    | 1 ложка PC20      |                   |
| Растение 13                    | 1 ложка PC26      |                   |
| Растение 14                    | 1 ложка PC33      |                   |
| Растение 15                    | 1 ложка PC37      |                   |
| Растение 16                    | 1 ложка PC49      |                   |

Исходя из таких растительных композиций 2 соответствующих водных экстракта (или обработанных образца) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 40 мл воды для М[20P]-576 и 20 мл воды для М[10P]-154, которая содержит 100 г/л сахарозы для экстракции воды, и включая этап центрифугирования перед фильтрацией.

Биологическую активность обработанных образцов определяли согласно ранее описанному способу С с использованием следующих штаммов:

- Штаммы *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923, ATCC 49476, ATCC 6538, ATCC 51740, ATCC 29213, ATCC 14775, NCTC 12493, ATCC

33591, ATCC 33592, ATCC 43300, ATCC 700698, ATCC 700699, ATCC 9144 и ATCC ВАА-44

- Штаммы *Staphylococcus epidermidis*: ATCC 14990, ATCC 12228, ATCC 700296, ATCC 49134 и ATCC 49461

- Штамм *Staphylococcus pseudintermedius*: ATCC 49444

Минимальная ингибирующая концентрация (МИС), наблюдаемая для 2 обработанных образцов, приведена в Таблице 6-2 в форме НІD, также как и средняя эффективность по всем штаммам *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*.

Таблица 6-2: НІD 2 обработанных образцов на 14 штаммах *Staphylococcus aureus*, 5 штаммах *Staphylococcus epidermidis* и 1 штамме *Staphylococcus pseudintermedius*

|                            |                | М[10P]-154 | М[20P]-576 |
|----------------------------|----------------|------------|------------|
| <i>S. aureus</i>           | ATCC 25923     | 20         | 20         |
|                            | ATCC 49476     | 40         | 40         |
|                            | ATCC 6538      | 10         | 10         |
|                            | ATCC 51740     | 20         | 40         |
|                            | ATCC 29213     | 20         | 20         |
|                            | ATCC 14775     | 20         | 20         |
|                            | NCTC 12493     | 40         | 40         |
|                            | ATCC 33591     | 20         | 40         |
|                            | ATCC 33592     | 20         | 40         |
|                            | ATCC 43300     | 20         | 40         |
|                            | ATCC 700698    | 20         | 20         |
|                            | ATCC 700699    | 40         | 20         |
|                            | ATCC 9144      | 20         | 20         |
|                            | ATCC ВАА-44    | 40         | 20         |
|                            | <b>Среднее</b> | <b>25</b>  | <b>28</b>  |
| <i>S. epidermidis</i>      | ATCC 14990     | 40         | 20         |
|                            | ATCC 12228     | 40         | 20         |
|                            | ATCC 700296    | 40         | 20         |
|                            | ATCC 49461     | 40         | 20         |
|                            | ATCC 49134     | 80         | 80         |
|                            | <b>Среднее</b> | <b>48</b>  | <b>32</b>  |
| <i>S. pseudintermedius</i> | ATCC 49444     | 40         | 40         |
| <b>Общее среднее</b>       |                | <b>32</b>  | <b>30</b>  |

М[10P]-154 и М[20P]-576 показали полную антимикробную активность на всех исследуемых *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. М[10P]-154 показала полную антимикробную активность при 1: 80 для 1 штамма *Staphylococcus epidermidis*, при 1: 40 для 4 штаммов *Staphylococcus aureus*, 4

*Staphylococcus epidermidis* и исследуемого штамма *Staphylococcus pseudintermedius*, при 1: 20 для 9 штаммов *Staphylococcus aureus* и при 1: 10 для 1 штамма *Staphylococcus aureus*.

М[20Р]-576 показала полную антимикробную активность при 1: 80 для 1 штамма *Staphylococcus epidermidis*, при 1: 40 для 6 штаммов *Staphylococcus aureus* и исследуемого штамма *Staphylococcus pseudintermedius*, при 1: 20 для 7 штаммов *Staphylococcus aureus* и 4 штаммов *Staphylococcus aiederus* и при 1: 10 для 1 штамма *Staphylococcus aureus*.

Процент ингибирования роста планктонных бактерий и процент ингибирования образования биопленки (IBF) для 2 обработанных образцов при разведении 1: 20 приведены в Таблице 6-3, также как и средняя эффективность по всем штаммам *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*.

**Таблица 6-3: ингибирование роста планктона и ингибирование образования биопленки (IBF) для 2 обработанных образцов на 14 штаммах *Staphylococcus aureus*, 5 штаммах *Staphylococcus epidermidis* и 1 штамме *Staphylococcus pseudintermedius* при разведении 1: 20**

|                  |               | ингибирование<br>роста планктона |                | ингибирование<br>образования<br>биопленки (IBF) |                |
|------------------|---------------|----------------------------------|----------------|---|----------------|
|                  |               | М[10Р]-<br>154                   | М[20Р]-<br>576 | М[10Р]-<br>154                                  | М[20Р]-<br>576 |
| <i>S. aureus</i> | ATCC<br>25923 | 96%                              | 99%            | 90%   | 88%            |
|                  | ATCC<br>49476 | 93%                              | 109%           | 93%   | 95%            |
|                  | ATCC<br>6538  | 49%                              | 56%            | 45%   | 60%            |
|                  | ATCC<br>51740 | 91%                              | 106%           | 89%   | 96%            |
|                  | ATCC<br>29213 | 94%                              | 105%           | 91%   | 92%            |
|                  | ATCC<br>14775 | 90%                              | 105%           | 88%   | 90%            |
|                  | NCTC<br>12493 | 99%                              | 113%           | 93%   | 92%            |
|                  | ATCC<br>33591 | 95%                              | 113%           | 91%   | 93%            |
|                  | ATCC<br>33592 | 97%                              | 107%           | 91%   | 93%            |
|                  | ATCC          | 94%                              | 110%           | 90%   | 92%            |

|                                     |                          |            |             |            |            |
|-------------------------------------|--------------------------|------------|-------------|------------|------------|
|                                     | 43300                    |            |             |            |            |
|                                     | ATCC<br>700698           | 92%        | 113%        | 89%        | 91%        |
|                                     | ATCC<br>700699           | 88%        | 95%         | 98%        | 96%        |
|                                     | ATCC<br>9144             | 82%        | 91%         | 88%        | 84%        |
|                                     | ATCC<br>ВАА-44           | 90%        | 101%        | 93%        | 94%        |
|                                     | <b>Среднее</b>           | <b>89%</b> | <b>102%</b> | <b>88%</b> | <b>90%</b> |
| <i>S.<br/>epidermidis</i>           | ATCC<br>14990            | 90%        | 101%        | 91%        | 90%        |
|                                     | ATCC<br>12228            | 90%        | 101%        | 93%        | 91%        |
|                                     | ATCC<br>700296           | 86%        | 90%         | 81%        | 82%        |
|                                     | ATCC<br>49461            | 90%        | 99%         | 93%        | 85%        |
|                                     | ATCC<br>49134            | 89%        | 96%         | 96%        | 90%        |
|                                     | <b>Среднее</b>           | <b>89%</b> | <b>98%</b>  | <b>91%</b> | <b>88%</b> |
| <i>S.<br/>pseudinterme<br/>dius</i> | ATCC<br>49444            | 92%        | 103%        | 95%        | 93%        |
|                                     | <b>Общее<br/>среднее</b> | <b>89%</b> | <b>101%</b> | <b>89%</b> | <b>89%</b> |

При разведении 1: 20 М[10Р]-154 показал в среднем 88% ингибирования образования биопленки на всех исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus*, тогда как М[20Р]-576 показал в среднем 90%. Две смеси показали более низкую антимикробную активность на одном штамме: АТСС 6538 (45% для М[10Р]-154, 60% для М[20Р]-576). М[10Р]-154 продемонстрировал в среднем 91% ингибирования роста планктона на всех исследуемых штаммах *Staphylococcus epidermidis*, тогда как М[20Р]-576 показал в среднем 88%. (см. Таблицу 6-3). Две смеси показали более, соответственно, 95% (М[10Р]-154) и 93% (М[20Р]-576) ингибирования на исследуемом *Staphylococcus pseudintermedius*. Таким образом, М[10Р]-154 и М[20Р]-576 продемонстрировали антибиопленочную активность в отношении *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus pseudintermedius* в разведении 1: 20.

#### Пример 7

Раствор Мiх[20С]-576 (описанной в Примере 6), используемый для следующих составов, готовили в соответствии с ранее

описанными способами А и В, за исключением стадии фильтрации, которая в данном примере выполняется фильтрацией с отсасыванием с помощью воронки Бюхнера, заполненной слоем гидрофильного хлопка толщиной 5 см. Для наглядности этот фильтрованный хлопком раствор будет обозначен как SK576 в следующем Примере.

Мазь и два крема, предназначенные для местного применения, готовили способом эмульгирования следующим образом:

- Фаза А и фаза В были приготовлены смешиванием при орбитальном встряхивании в двух отдельных стаканах следующих ингредиентов:

|        | Фаза А   | Фаза Б  |
|--------|--|---|
| Мазь   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 73,8 г органического миндального масла (Hyteck, «Aroma Zone™», Франция)</li> <li>- 18,5 г органического пчелиного воска (Hyteck, «Aroma Zone™», Франция)</li> <li>- 9,7 г органического масла ши (Hyteck, «Aroma Zone™», Франция)</li> <li>- 1,0 мл натурального токоферола (Hyteck, «Aroma Zone™», Франция)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 29,6 г SK576, приготовленного, как описано в примере 6</li> <li>- 13,5 г органического глицерина (Naissance Trading &amp; Innovation, «Naissance™», Великобритания)</li> <li>- 2,7 г аскорбиновой кислоты (Hyteck «Aroma Zone™», Франция)</li> </ul> |
| Крем 1 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 30,4 г органического миндального масла (Hyteck, «Aroma Zone», Франция):</li> <li>- 8,3 г органического Olivem® 1000 (Hyteck, «Aroma Zone™», Франция)</li> <li>- 3,1 г ментола (Hyteck «Aroma Zone™», Франция)</li> <li>- 1,0 мл натурального токоферола (Hyteck,</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 51,5 г SK576, приготовленного, как описано в примере 6</li> <li>- 14,9 г органического глицерина (Naissance Trading &amp; Innovation «Naissance™», Великобритания)</li> </ul>  |

|        |  |  |
|--------|--|--|
|        | «Aroma Zone™», Франция)  |  |
| Крем 2 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 14,9 г органического миндального масла (Hyteck «Aroma Zone™», Франция):</li> <li>- 11,8 г органического Olivem® 1000 (Hyteck «Aroma Zone™», Франция)</li> <li>- 5,1 г органического масла ши (Hyteck «Aroma Zone™», Франция)</li> <li>- 1,0 мл натурального токоферола (Hyteck «Aroma Zone™», Франция)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 160,0 г SK576, приготовленного, как описано в примере 6</li> <li>- 10 г органического глицерина (Naissance Trading &amp; Innovation, «Naissance™», Великобритания)</li> </ul> |

- Два химических стакана нагревали до 70 °С с использованием водяной бани и выдерживали при 70 °С в течение 10 минут, чтобы избежать кристаллизации пчелиного воска.

- Затем фазу В медленно переливали в фазу А, выдерживая химический стакан в водяной бане и при постоянном перемешивании с помощью механического погружного блендера (Moulinex "Infinyforce\_hand blender", Франция).

- Химический стакан, содержащий смесь фаз А и В, затем извлекали из водяной бани, и мазь формировали с использованием погружного «майонезного» блендера (Moulinex, Infinyforce\_hand blender, Франция).

Гель для местного применения готовили путем

- Фильтрации 20,6 г SK576 гидрофильным шприцевым фильтром (0,22 мкм).

- Добавления 0,75 г порошка ксантана (Hyteck «Aroma Zone™», Франция) и 0,25 г аскорбиновой кислоты (Hyteck «Aroma Zone™», Франция) к отфильтрованному раствору и перемешивания шпателем в течение 5-10 минут, чтобы придать форму.

Распыляемый раствор для местного применения готовили путем:

- Смешивания 5,5 г SK576 с 11,9 г абсолютного этанола (Sigma-Aldrich, Франция) в химическом стакане объемом 20 мл,

который хранили в холодильнике при 5°C в течение 3 часов.

- Размещения стакана с холодной смесью в ледяную баню и осторожного добавления 0,7 г Kolliphor® P-407 (Sigma-Aldrich, Франция) при перемешивании с помощью магнитной штанги и мешалки.

- После 30-минутного перемешивания в условиях ледяной бани раствор вводили в распылитель реагентов (CAMAG, Швейцария) для применения.

Протокол для каждого из этих пяти препаратов можно легко масштабировать до разных объемов препарата, сохраняя одинаковое относительное количество каждого ингредиента.

### Пример 8

**Биологическая активность водного экстракта согласно изобретению на мышинной модели летальной инфекции *Staphylococcus aureus***

#### Введение

Штамм *S. aureus* Newman был выделен в 1952 году из человеческой инфекции и широко использовался на животных моделях стафилококковых инфекций благодаря его устойчивому фенотипу вирулентности.

Самки мышей OF1 широко используются для изучения патогенеза, вызванного *Staphylococcus aureus*. В ранних работах по патогенезу инфекций *Staphylococcus aureus* использовали внутрибрюшинный путь заражения и лечения мышей из-за его технической легкости.

Цель данного Примера заключалась в оценке антимикробной активности водного экстракта согласно изобретению у самок мышей OF1, зараженных летальной дозой *Staphylococcus aureus* Newman. Лечение проводили перорально по схеме Q1Dx10 (один раз в сутки в течение десяти суток), за 2 суток до заражения и до 7 суток после заражения. Контроль смертности проводили с D0 до D15 (D-сутки).

Носитель использовали в качестве отрицательного контроля.

#### Материал и способы

*Исследуемая субстанция и контроли*

*Исследуемая субстанция:* водный экстракт M[20C] 576

(полученный из 120 г/л растительной композиции, приготовленной как описано в Примере 6). Она была предоставлена в 11 флаконах, содержащих 1200 мкл каждого из водных экстрактов. Ее хранили при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

*Носитель*: 10% водный раствор сахарозы. Он будет храниться при температуре  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

*Бактериальный штамм*: штамм Newman *Staphylococcus* (предоставлен доктором Т. Фостером, Тринити-колледж, Дублин, Ирландия, партия № 14156, LST4).

#### Приобретение и содержание животных

Двадцать (20) Crl:OF1 (беспородных) самок мышей в возрасте 6 недель приобретали у Charles River (L'Arbresle, Франция).

Система по уходу за животными была утверждена французскими министерствами сельского хозяйства и научных исследований (номер соглашения В35-288-1). Эксперименты на животных выполняли в соответствии с этическими принципами экспериментов на животных (Principes d'éthique de l'expérimentation animale, Directive n°86/609 CEE du 24 Nov. 1986, Décret n°87/848 du 19 Oct. 1987, Arrêté d'Application du 19 Avril 1988).

Животных содержали в помещениях «А2» в контролируемых условиях температуры ( $22 \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), влажности ( $50 \pm 20\%$ ), фотопериода (12 ч света/12 ч темноты), воздухообмена и низкого давления. Система кондиционирования воздуха запрограммирована на 14 смен воздуха в час без рециркуляции.

Пищу и воду давали *ad libitum*, помещая на металлическую крышку сверху клетки.

#### Лечение и дизайн эксперимента

*Подготовка бактерий* - Усиление бактерий для заражения

Один флакон с бактериями размораживали и 100 мкл инокулята культивировали в 50 мл триптического соевого бульона (TSB, Ref. 43592 или 22902, Sigma). Бактерии инкубировали при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 20 часов при перемешивании со скоростью 110 об/мин на горизонтальном шейкере. Бактериальная суспензия будет разбавлена в соотношении 1/20 (100 мкл+1,9 мл TSB), а оптическая плотность будет считана при 680 нм (ОП680 нм).

Затем 10 мл бактерий центрифугировали при 5200 об/мин (3400 г) в течение 10 минут при 4 °С. Супернатант удаляли и бактерии растворяли в 10 мл DPBS (фосфатно-солевой буфер Дюльбекко) (Ref. BE17-512F, Lonza, France). Бактериальную суспензию (C0) разводили 1/20 (100 мкл+1,9 мл DPBS) и измеряли ОП680 нм.

ОП680 нм, измеренные до и после центрифугирования, должны быть одинаковыми.

Концентрацию КОЕ/мл раствора бактерий рассчитывали следующим образом:

$$\text{КОЕ/мл} = (\text{ОП680 нм} \times 20 \text{ (коэффициент разведения)}) \times 6.5.108 \text{ (КОЕ/ЕОП)} \text{ (ЕОП- единица оптической плотности)}$$

#### *Приготовление муцина*

Муцин (Sigma, Франция) готовили при 20% за 14-16 суток до лечения, как описано ниже:

DPBS (фосфатно-солевой буфер Дюльбекко) предварительно нагревали при 56 °С и  $\frac{3}{4}$  конечного объема переносили в мешалку, затем добавляли свиной муцин и смешивали. Мешалку промывали оставшимся объемом DPBS. Затем 20% раствор муцина переносили в колбу Эрленмейера и инкубировали при 37 °С при перемешивании в течение 1 часа и 30 минут.  $\frac{3}{4}$  20% раствора муцина переносили в стерильный флакон. Остальную часть  $\frac{1}{4}$  раствора хранили отдельно. Затем  $\frac{3}{4}$  и  $\frac{1}{4}$  растворов стерилизовали при помощи автоклава. Стерильный 20% раствор свиного муцина хранили при +4 °С.

За день до заражения pH  $\frac{3}{4}$  20% раствора муцина доводили до 7,4 путем добавления отфильтрованного 30% NaOH. При необходимости часть  $\frac{1}{4}$  оставшегося раствора использовали для корректировки pH.

#### *Подготовка бактерий*

Согласно ОП680 нм, бактерии (C0) разводили в DPBS до достижения концентрации  $6,8 \times 10^7$  КОЕ/мл. Эти суспензии затем разбавляли в соотношении 1/2 в 20% свином муцине, чтобы получить концентрацию LD80  $3,4 \times 10^7$  КОЕ/мл в PBS-10% свином муцине. Используемую для обработки суспензию помещали в пробирку, содержащую стерильные стеклянные гранулы (4 мм, Ref. 068502, Dutscher, Франция). Суспензию не встряхивали, а перемешивали

путем переворачивания пробирок. Бактерии помещали на лед перед обработкой и хранили на льду во время обработки.

#### *Определение КОЕ*

Чтобы определить точную концентрацию бактериальной суспензии до и после инокуляции животных, бактериальную суспензию разводили в 10-кратных серийных разведениях в DPBS-0,5% Твин 20 (Sigma, Франция), как описано в Таблице 8-1, в глубоких лунках (50 мкл бактерий+450 мкл DPBS-0,5% Твин 20). Затем 3, 4, 5 и 6  $\times$  50 мкл бактериальных разведений высевали на чашку с триптическим соевым агаром (Tryptic Soy Agar, Sigma) и оставляли при 37 °С на ночь. Колонии подсчитывали для определения реального КОЕ (колониеобразующих единиц) инокулятов.

Подсчет выполняли в капле (50 мкл), которая содержит от 20 до 100 колоний. Заштрихованные ячейки соответствуют разведениям, посеянным на чашки.

**Таблица 8-1: Разведения бактериальной суспензии для определения реального КОЕ (жизнеспособности) инокулятов. Заштрихованные ячейки соответствуют разведениям, посеянным на чашки.**

| Оставленная на ночь<br>бактериальная суспензия<br>в PBS                     | Разведения                   |                              |                              |                   |                   |                   |
|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|   | 1                            | 2                            | 3                            | 4                 | 5                 | 6                 |
|   | 1/10                         | 1/100                        | 1/10 <sup>3</sup>            | 1/10 <sup>4</sup> | 1/10 <sup>5</sup> | 1/10 <sup>6</sup> |
| Например, начальная<br>концентрация: 3,4 $\times$ 10 <sup>7</sup><br>КОЕ/мл | 3,4 $\times$ 10 <sup>6</sup> | 3,4 $\times$ 10 <sup>5</sup> | 34000                        | 3400              | 340               | 34                |
| Количество колоний/50<br>мкл<br>(1 капля)                                   | 1,7 $\times$ 10 <sup>5</sup> | 1,7 $\times$ 10 <sup>4</sup> | 1,7 $\times$ 10 <sup>3</sup> | 170               | 17                | 1,7               |

#### *Рандомизация*

Перед экспериментом (D-2) 20 здоровых самок мышей OF1 были рандомизированы в 2 группы по 10 мышей в группе в соответствии с критериями массы тела, так что средняя масса тела групп не была статистически различной.

#### *Лечение*

Лечение проводили от D-2 до D7 (D0: день инокуляции бактерий) пероральным (PO) введением. Бактериальные инокуляции

были сделаны внутрибрюшинной инъекцией (и/п).

#### *Инокуляция*

На D0 мышей инокулировали бактериальной суспензией. Каждая инокуляция представляла собой внутрибрюшинную инъекцию 500 мкл суспензии при  $3,4 \times 10^7$  КОЕ/мл ( $1,7 \times 10^7$  КОЕ/мышь).

#### *Дизайн эксперимента*

Животных лечили пероральным введением исследуемого вещества от D-2 до D7. На D0 процедуры проводили через 1 ч после бактериальной инокуляции.

Экспериментальные группы будут определены, как описано ниже, и обобщены в Таблице 8-2.

- 10 мышей группы 1 будут лечить с D-2 до D7 носителем при пероральном введении в соответствии со схемой лечения Q1DX10.
- 10 мышей группы 2 будут лечить с D-2 до D7 исследуемой субстанции при пероральном введении в соответствии со схемой лечения Q1DX10.

**Таблица 8-2: Дизайн эксперимента**

| Группы | Количество мышей | Исследуемая субстанция | Путь введения | Вводимый объем | Схема лечения            | Бактериальная модель   |
|--------|------------------|------------------------|---------------|----------------|--------------------------|--|
| 1      | 10               | Носитель               | П/О           | 10 мл/кг       | Q1DX10<br>(от D-2 до D7) | И/п летальный<br>Newman  |
| 2      |                  | Исследуемая субстанция |               |                |                          | <i>Staphylococcus aureus</i><br>( $3,4 \times 10^7$ КОЕ/мл)<br>500 мкл |

#### *Наблюдение за животными*

С D0 до D1 мышей наблюдали два раза в сутки на смертность.

С D2 до D15 мышей наблюдали один раз в сутки на смертность.

Массу тела мышей регистрировали два раза в неделю до конца эксперимента.

Подробные клинические наблюдения (изменения кожи, шерсти, глаз, слизистых оболочек, появления секретов и выделений, дыхательной функции, изменений в походке, осанки) проводили два раза в неделю, как описано, например, в Таблице 8-3 ниже.

Описание данного списка не является исчерпывающим и при необходимости дополняется другими замечаниями.

**Таблица 8-3 Клинические наблюдения/параметры**

| Параметры               | Описание              | Параметры    | Описание      | Параметры               | Описание         |                     |
|-------------------------|-----------------------|--------------|---------------|-------------------------|------------------|---------------------|
| Подвижность/<br>Походка | Заторможенная         | Поведение    | Напуганное    | Шерсть                  | Нормальная       |                     |
|                         | Уменьшенная           |              | Нормальное    |                         | Взъерошенная     |                     |
|                         | Нормальная            |              | Агрессивное   |                         | Выпадающая       |                     |
|                         | Излишняя              | Медленное    | Окрашенная    |                         |                  |                     |
| Посадка                 | Нормальная            | Дыхание      | Нормальное    | Слизистые<br>оболочки   | Не<br>определено |                     |
|                         | Поникшая              |              | Быстрое       |                         | Нормальные       |                     |
| Паралич                 | Нет                   |              | Глаза         |                         | Нерегулярное     | Аномальные<br>(нос) |
|                         | Фронтальный<br>правый | Нормальные   |               |                         | (рот)            |                     |
|                         | Фронтальный<br>левый  | Слезящиеся   |               | Аномальные              |                  |                     |
|                         | Задний правый         | Закрытые     | Выделени<br>я | Аномальные<br>(Нос/рот) |                  |                     |
|                         | Задний левый          | Нормальная   |               | Мало                    |                  |                     |
|                         | Справа                | Покрасневшая |               |                         |                  |                     |
|                         | Слева                 | Эритема      |               |                         |                  |                     |
|                         | Фронтальный           | С раной      | Нормальные    |                         | Изобильные       |                     |
| Задний                  | С гематомой           | Сухие        |               |                         |                  |                     |

*Умерщвление мышей*

На D15 выживших мышей умерщвляли обескровливанием с последующим вывихом шейки матки, если необходимо. Вскрытие не проводилось.

Результаты

Анализ выживаемости мышей показал результаты, представленные в следующих Таблицах 8-4 и 8-5.

**Таблица 8-4 Количество мышей, выживших в сутки**

| Количество выживших мышей в сутки   |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Группы  | N D0 | N D1 | N D2 | N D3 | N D4 | N D5 | N D6 | N D7 | N D8 |
| Группа 1 (Носитель, п/о, Q1Dx10, 10 мл/кг)                                | 10   | 6    | 6    | 5    | 5    | 3    | 2    | Н/Д  | 0    |
| Группа 2 (чистый TS (триптический соевый бульйон), п/о, Q1Dx10, 10 мл/кг) | 10   | 6    | 6    | 6    | 6    | 6    | 4    | Н/Д  | 3    |

**Таблица 8-5 Процент выживших мышей в сутки**

| Процент выживаемости                       |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|--|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Группы                                     | N D0 | N D1 | N D2 | N D3 | N D4 | N D5 | N D6 | N D7 | N D8 |
| Группа 1 (Носитель, п/о, Q1Dx10, 10 мл/кг) | 100% | 60%  | 60%  | 50%  | 50%  | 30%  | 20%  | Н/Д  | 0%   |

|   |      |     |     |     |     |     |     |     |     |
|---|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Группа 2 (чистый TS (триптический соевый бульйон), п/о, Q1Dx10, 10 мл/кг) | 100% | 60% | 60% | 60% | 60% | 60% | 40% | Н/Д | 30% |
|---|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

Н/Д= нет данных

Лечение позволило снизить смертность мышей с 100% до 70%. Таким образом, это исследование на животных показало, что заявленные антимикробные и антибиопленочные активности, наблюдаемые *in vitro*, преобразуются в терапевтический эффект, когда водный экстракт согласно изобретению перорально вводят животным.

### Пример 9

В данном Примере мы иллюстрируем одновременную антимикробную и антибиопленочную активность против *Staphylococcus aureus* раскрытой композиции 2 растений из 3: *Filipendula ulmaria* PA13, *Camellia sinensis* PA21, *Arctostaphylos uva-ursi* PB12, и по меньшей мере 1 растения из 3: *Eugenia caryophyllus* PC20, *Vitis vinifera var. tinctorial* PA22, *Desmodium adscendens* PB07. Высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция).

Исходя из таких трех различных растительных порошков, шесть растительных композиций готовили в соответствии со способом А, описанным ранее.

### Перечень 9-1: растительные композиции обработанных образцов

М[02P]-064: PA13; PA21;  
 М[03P]-050: PA13; PA21; PC20;  
 М[03P]-053: PA13; PA21; PB07;  
 М[03P]-056: PA13; PA21; PA22;  
 М[02P]-065: PA13; PB12;  
 М[03P]-051: PA13; PB12; PC20;  
 М[03P]-054: PA13; PB12; PB07;  
 М[03P]-057: PA13; PB12; PA22;  
 М[02P]-066: PA21; PB12;  
 М[03P]-052: PA21; PB12; PC20;  
 М[03P]-055: PA21; PB12; PB07;  
 М[03P]-058: PA21; PB12; PA22;

М[03Р]-059: PA13; PB12; PA21;  
 М[04Р]-025: PA13; PB12; PA21; PC20;  
 М[04Р]-026: PA13; PB12; PA21; PB07;  
 М[04Р]-027: PA13; PB12; PA21; PA22.

Исходя из растительных композиций, перечисленных в Перечнях 6-3, соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 40 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием следующих штаммов *Staphylococcus aureus*: ATCC 6538 со следующими конечными разведениями обработанных образцов: 1: 5 для ингибирования образования биопленки и 1: 10 для ингибирования роста. Обратите внимание, что ингибирование роста близко к 100% для каждой смеси при разведении 1: 5, а ингибирование образования биопленки близко к 0% для всех смесей при разведении 1: 10.

Процент ингибирования роста планктонных бактерии и процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из различных растительных композиций, приведены в следующей Таблице 9-1.

**Таблица 9-1: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на штамме *Staphylococcus aureus* ATCC® 6538™ обработанного образца на основе композиций, приведенных в Перечне 9-1. Обработанные образцы использовали в разведении 1: 10 для испытаний на ингибирование роста планктона и в разведении 1: 5 для ингибирования образования биопленки.**

| (А)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| М[02Р]-064 | 47%                           | 34%                                 |
| М[03Р]-050 | 70%                           | 56%                                 |
| М[03Р]-053 | 55%                           | 35%                                 |
| М[03Р]-    | 56%                           | 38%                                 |

| (В)        | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| М[02Р]-065 | 42%                           | 15%                                 |
| М[03Р]-051 | 59%                           | 36%                                 |
| М[03Р]-054 | 54%                           | 22%                                 |
| М[03Р]-    | 54%                           | 34%                                 |

|            |                               |                                     |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| 056        |                               |                                     |
|            |                               |                                     |
| <b>(C)</b> | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
| M[02P]-066 | 40%                           | 23%                                 |
| M[03P]-052 | 53%                           | 28%                                 |
| M[03P]-055 | 59%                           | 27%                                 |
| M[03P]-058 | 60%                           | 33%                                 |

|            |                               |                                     |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| 057        |                               |                                     |
|            |                               |                                     |
| <b>(D)</b> | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
| M[03P]-059 | 59%                           | 87%                                 |
| M[04P]-025 | 69%                           | 90%                                 |
| M[04P]-026 | 64%                           | 90%                                 |
| M[04P]-027 | 64%                           | 89%                                 |

(А) Перечни экстрактов, полученных из растительных композиций, содержащих PA13 и PA21, в которых добавление одного из PC20, PB07 и PA22 улучшает активность; (В) перечни экстрактов, полученных из растительных композиций, содержащих PA13 и PB12, в которых добавление одного из PC20, PB07 и PA22 улучшает активность; (С) перечни экстрактов, полученных из растительных композиций, содержащих PA13, PA21 и PB12, в которых добавление одного из PC20, PB07 и PA22 улучшает активность; (D) перечни экстрактов, полученных из растительных композиций, содержащих PA13 и PA21, в которых добавление одного из PC20, PB07 и PA22 улучшает активность.

#### Пример 10

В данном Примере мы иллюстрируем одновременную антимикробную и антибиопленочную активность против *Staphylococcus aureus* из 324 экстрактов смесей, полученных из раскрытых растительных композиций, содержащих 2 растения из 3: *Filipendula ulmaria* (PA13), *Camellia sinensis* (PA21), *Arctostaphylos uva-ursi* (PB12) и по меньшей мере 1 растение из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera var. tinctorial* (PA22), *Desmodium adscendens* (PB07).

Для смесей от M[20C]-2083 до M[20C]-20798, высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция). Для смесей от M[20C]-2805 до M[20C]-2957, высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от "Pharmacie Fontgiève" (Клермон-Ферран, Франция, растения от PA00 до PB12) и «Pharmacie St Herem» (Клермон-Ферран, Франция, растения от PB13 до PD02).

Растительные композиции, содержащие от 3 до 20 растительных порошков, готовили в соответствии с ранее описанным способом А.

Исходя из растительных композиций, соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 40 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием следующих штаммов *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923, ATCC 49476, ATCC 6538, ATCC 51740, ATCC 29213 и ATCC 14775 с конечными разведениями 1: 20 обработанных образцов.

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из следующих растительных композиций, соответственно, Перечня 10-1, Перечня 10-2, Перечня 10-3 и Перечня 10-4 приведены, соответственно, в Таблице 10-1, Таблице 10-2, Таблице 10-3 и Таблице 10-4. В каждом наборе было обнаружено, что экстракты, полученные из растительных композиций, содержащих более 3 или 4 растений, проявляют ингибирование роста планктона или ингибирование образования биопленки (или оба ингибирования) выше, чем в любой смеси, содержащей только 3 или 4 растения

**Перечень 10-1: Экстракты из растительных композиций, содержащих 2 растения из 3: *Filipendula ulmaria* (PA13), *Camellia sinensis* (PA21) и по меньшей мере одно из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera var. tinctorial* (PA22), *Desmodium adscendens* (PB07):**

М[03Р]-050: PA13; PA21; PC20;

М[03Р]-053: PA13; PA21; PB07;

М[03Р]-056: PA13; PA21; PA22;

М[20С]-2808: PA11; PA12; PA13; PA13; PA18; PA21; PA23; PA24; PA28; PA69; PB07; PB88; PC23; PC24; PC49; PC52; PC55 (2 ложки); PC60; PC97;

М[20С]-2820: PA10; PA11 (2 ложки); PA12; PA13; PA14; PA18; PA20; PA21; PA25; PA29; PA33; PA35; PA67; PA75; PB07; PB60; PC33;

PC35; PC55 ;

M[20C]-2821: PA11; PA13 (2 ложки); PA19; PA20; PA21; PA22; PA25;  
PA29; PA33; PA35; PA75; PB07; PB36; PC20; PC33 (2 ложки); PC49;  
PC55; PC97;

M[20C]-2826: PA11; PA13 (2 ложки); PA20; PA21; PA24; PA25; PA29;  
PA33; PA34; PA35; PA52; PA70; PA75; PB07; PC11; PC21; PC33;  
PC37; PC74;

M[20C]-2827: PA10; PA11; PA13 (2 ложки); PA20; PA21; PA25; PA26;  
PA29; PA33; PA35; PA57; PA75; PB02; PB07; PB28; PC11; PC23;  
PC33; PC49;

M[20C]-2830: PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA18; PA21; PA22;  
PA25; PA29; PA32; PA34; PA67; PB07; PB60; PB88; PC33; PC35;  
PC55; PC98;

M[20C]-2831: PA13; PA13; PA19; PA21; PA22; PA22; PA25; PA29;  
PA32; PA34; PB07; PB36; PB88; PC20; PC33; PC33; PC49; PC55;  
PC97; PC98;

M[20C]-2833: PA10; PA11; PA13; PA14; PA21; PA22; PA24; PA25;  
PA26; PA29; PA32; PA34; PB33; PB88; PB88; PC12; PC23; PC27;  
PC33; PC98;

M[20C]-2836: PA13; PA13; PA21; PA22; PA24; PA25; PA29; PA32;  
PA34; PA34; PA52; PA70; PB07; PB88; PC11; PC21; PC33; PC37;  
PC74; PC98;

M[20C]-2837: PA10; PA13 (2 ложки); PA21; PA22; PA25; PA26; PA29;  
PA32; PA34; PA57; PB02; PB07; PB28; PB88; PC11; PC23; PC33;  
PC49; PC98;

M[20C]-2838: PA12; PA13 (2 ложки); PA18; PA21; PA21; PA22; PA24;  
PA25; PA29; PA32; PA34; PB88; PC23; PC33; PC49; PC52; PC55;  
PC97; PC98;

M[20C]-2839: PA13 (2 ложки); PA14; PA21; PA22; PA25; PA25; PA26;  
PA29; PA32; PA34; PA39; PA52; PA57; PB33; PB88; PC33; PC71;  
PC97; PC98;

M[20C]-2858: PA12; PA13; PA18; PA20; PA21; PA23; PA24; PA24;  
PA67; PB07; PB28; PB33; PC12; PC20; PC21; PC23; PC49; PC52;  
PC55; PC97;

M[20C]-2861: PA13; PA19; PA21; PA22 (2 ложки); PB07; PB28; PB36;  
PB60; PC11; PC20; PC20; PC23; PC33; PC49; PC55 (2 ложки); PC60;

PC74; PC97;

M[20C]-2866: PA13; PA21; PA22; PA24; PA34; PA52; PA70; PB07;  
PB28; PB60; PC11 (2 ложки); PC20; PC21; PC23; PC37; PC55; PC60;  
PC74 (2 ложки);

M[20C]-2867: PA10; PA13; PA21; PA22; PA26; PA57; PB02; PB07;  
PB28; PB28; PB60; PC11 (2 ложки); PC20; PC23; PC23; PC49; PC55;  
PC60; PC74;

M[20C]-2868: PA12; PA13; PA18; PA21; PA21; PA22; PA24; PB28;  
PB60; PC11; PC20; PC23 (2 ложки); PC49; PC52; PC55 (2 ложки);  
PC60; PC74; PC97;

M[20C]-2869: PA13; PA14; PA21; PA22; PA25; PA26; PA39; PA52;  
PA57; PB28; PB33; PB60; PC11; PC20; PC23; PC55; PC60; PC71;  
PC74; PC97;

M[20C]-2871: PA10; PA11; PA13; PA19; PA21; PA22; PA35; PA57;  
PB07; PB07; PB36; PB77; PC20 (2 ложки); PC23; PC33; PC49; PC55;  
PC71; PC97;

M[20C]-2876: PA10; PA11; PA13; PA21; PA24; PA34; PA35; PA52;  
PA57; PA70; PB07 (2 ложки); PB77; PC11; PC20; PC21; PC23; PC37;  
PC71; PC74;

M[20C]-2877: PA10; PA10; PA11; PA13; PA21; PA26; PA35; PA57;  
PA57; PB02; PB07; PB28; PB77; PC11; PC20; PC23 (2 ложки); PC49;  
PC71;

M[20C]-2878: PA10; PA11; PA12; PA13; PA18; PA21; PA21; PA24;  
PA35; PA57; PB07; PB77; PC20; PC23; PC23; PC49; PC52; PC55;  
PC71; PC97;

M[20C]-2879: PA10; PA11; PA13; PA14; PA21; PA25; PA26; PA35;  
PA39; PA52; PA57 (2 ложки); PB07; PB33; PB77; PC20; PC23; PC71  
(2 ложки); PC97;

M[20C]-2889: PA10; PA12; PA13; PA14; PA18; PA21; PA26; PA26;  
PA28; PA29; PA33; PA39; PA75; PB36; PC20; PC52; PC55 (2 ложки);  
PC60;

M[20C]-2894: PA11 (2 ложки); PA13; PA21; PA28; PA39; PA39; PA70;  
PB02; PB02; PB07; PB99 (2 ложки); PC14; PC20; PC49; PC71; PC97;  
PC98;

M[20C]-2944: PA10; PA11 (2 ложки); PA13; PA14; PA21; PA28; PA39;  
PA70; PB02; PB07; PB27; PB99; PC11; PC20; PC23; PC67; PC71;

PC97; PC98;

M[20C]-2954: PA11; PA12; PA13; PA14; PA21; PA23; PA28; PA33; PA39; PA70; PB01; PB02; PB07; PB99; PC20; PC27; PC52; PC71; PC97; PC98.

Таблица 10-1: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе экстрактов из Перечня 10-1 при разведении 1: 20

|             | Ингибировани<br>е роста<br>планктона | Ингибировани<br>е<br>образования<br>биопленки |             | Ингибировани<br>е роста<br>планктона | Ингибировани<br>е<br>образования<br>биопленки |
|-------------|--------------------------------------|---|-------------|--------------------------------------|---|
| M[03C]-050  | 41%                                  | 31%   | M[20C]-2858 | 58%                                  | 32%   |
| M[03C]-053  | 37%                                  | 23%   | M[20C]-2861 | 58%                                  | 31%   |
| M[03C]-056  | 34%                                  | 21%   | M[20C]-2866 | 57%                                  | 43%   |
| M[20C]-2808 | 66%                                  | 30%   | M[20C]-2867 | 62%                                  | 32%   |
| M[20C]-2820 | 54%                                  | 27%   | M[20C]-2868 | 74%                                  | 36%   |
| M[20C]-2821 | 53%                                  | 24%   | M[20C]-2869 | 85%                                  | 45%   |
| M[20C]-2826 | 56%                                  | 25%   | M[20C]-2871 | 63%                                  | 26%   |
| M[20C]-2827 | 51%                                  | 26%   | M[20C]-2876 | 66%                                  | 28%   |
| M[20C]-2830 | 56%                                  | 37%   | M[20C]-2877 | 81%                                  | 43%   |
| M[20C]-2831 | 64%                                  | 31%   | M[20C]-2878 | 65%                                  | 28%   |
| M[20C]-2833 | 80%                                  | 39%   | M[20C]-2879 | 58%                                  | 28%   |
| M[20C]-2836 | 59%                                  | 25%   | M[20C]-2889 | 62%                                  | 41%   |
| M[20C]-2837 | 58%                                  | 25%   | M[20C]-2894 | 55%                                  | 29%   |
| M[20C]-2838 | 70%                                  | 30%   | M[20C]-2944 | 68%                                  | 16%   |
| M[20C]-2839 | 56%                                  | 30%   | M[20C]-2954 | 75%                                  | 27%   |

Перечень 10-2: экстракты из растительных композиций, содержащих *Filipendula ulmaria* (PA13), *Arctostaphylos uva-ursi* (PB12) и по меньшей мере одно из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera var. tinctoria* (PA22), *Desmodium adscendens* (PB07):

M[03C]-051: PA13; PB12; PC20;

M[03C]-054: PA13; PB12; PB07;

M[03C]-057: PA13; PB12; PA22;

M[20C]-2083: PA02; PA13; PA28 (2 ложки); PA31; PA36; PA40; PA79;  
PA93; PB01; PB12; PB17; PB18; PB31; PB51; PB77; PC20; PC58;  
PC64; PC66;

M[20C]-2084: PA13; PA28; PA31; PA36; PA61; PA76; PA76; PA79;  
PA82; PB01; PB10; PB12; PB17; PB31; PB57; PC20; PC36; PC41;  
PC64; PC66;

M[20C]-2085: PA12; PA13; PA14; PA28; PA30; PA31; PA36; PA79;  
PA94; PB00; PB01; PB08; PB12; PB17; PB31; PC02; PC14; PC20;  
PC64; PC66;

M[20C]-2090: PA08; PA13; PA20; PA23; PA26; PA32; PA46; PA52;  
PA57; PA79; PA95; PB10; PB12; PB33; PB76; PB82; PC08; PC20;  
PC21; PD00;

M[20C]-2091: PA08; PA13; PA26; PA52; PA57; PA72; PA79; PA88;  
PA92; PA95; PB12; PB60; PB76; PB83; PC08; PC11; PC20; PC26;  
PC68; PD00;

M[20C]-2092: PA08; PA13; PA17; PA26; PA52; PA53; PA57; PA79;  
PA95; PB06; PB12; PB50; PB76; PC08; PC20; PC20; PC27; PC97;  
PD00; PD02;

M[20C]-2100: PA13; PA20; PA23; PA32; PA41; PA46; PA53; PA79;  
PA80; PA90; PB08; PB10; PB12; PB33; PB82; PB85; PC20; PC21;  
PC28; PC75;

M[20C]-2102: PA13; PA17; PA41; PA53; PA53; PA79; PA80; PA90;  
PB06; PB08; PB12; PB50; PB85; PC20; PC20; PC27; PC28; PC75;  
PC97; PD02;

M[20C]-2104: PA13; PA41; PA53; PA61; PA76; PA76; PA79; PA80;  
PA82; PA90; PB08; PB10; PB12; PB57; PB85; PC20; PC28; PC36;  
PC41; PC75;

M[20C]-2105: PA12; PA13; PA14; PA30; PA41; PA53; PA79; PA80;  
PA90; PA94; PB00; PB08; PB08; PB12; PB85; PC02; PC14; PC20;  
PC28; PC75;

M[20C]-2110: PA00; PA10; PA13; PA20; PA23; PA25; PA30; PA32;  
PA46; PA52; PA79; PB05; PB10; PB12; PB33; PB82; PC01; PC20;  
PC21; PD07;

M[20C]-2111: PA00; PA10; PA13; PA25; PA30; PA52; PA72; PA79;  
PA88; PA92; PB05; PB12; PB60; PB83; PC01; PC11; PC20; PC26;  
PC68; PD07;

M[20C]-2120: PA11; PA13; PA16; PA20; PA23; PA32; PA44; PA46;  
PA60; PA67; PA73; PA79; PB10; PB12; PB33; PB48; PB82; PC17;  
PC20; PC21;

M[20C]-2122: PA11; PA13; PA16; PA17; PA44; PA53; PA60; PA67;  
PA73; PA79; PB06; PB12; PB48; PB50; PC17; PC20; PC20; PC27;  
PC97; PD02;

M[20C]-2131: PA05; PA13; PA18; PA37; PA55; PA72; PA72; PA79;  
PA88; PA92; PA97; PB04; PB12; PB60; PB83; PC11; PC20; PC26;  
PC35; PC68;

M[20C]-2135: PA05; PA12; PA13; PA14; PA18; PA30; PA37; PA55;  
PA72; PA79; PA94; PA97; PB00; PB04; PB08; PB12; PC02; PC14;  
PC20; PC35;

M[20C]-2137: PA05; PA13; PA18; PA27; PA37; PA46; PA55; PA72;  
PA79; PA82; PA97; PB00; PB04; PB11; PB12; PC20; PC35; PC45;  
PC52; PC67;

M[20C]-2140: PA13; PA14; PA20; PA23; PA32; PA37; PA46; PA79;  
PA85; PB10; PB12; PB33; PB49; PB82; PB98; PC20; PC21; PC55;  
PC62; PC98;

M[20C]-2141: PA13; PA14; PA37; PA72; PA79; PA85; PA88; PA92;  
PB12; PB49; PB60; PB83; PB98; PC11; PC20; PC26; PC55; PC62;  
PC68; PC98;

M[20C]-2142: PA13; PA14; PA17; PA37; PA53; PA79; PA85; PB06;  
PB12; PB49; PB50; PB98; PC20; PC20; PC27; PC55; PC62; PC97;  
PC98; PD02;

M[20C]-2143: PA02; PA13; PA14; PA28; PA37; PA40; PA79; PA85;  
PA93; PB12; PB18; PB49; PB51; PB77; PB98; PC20; PC55; PC58;  
PC62; PC98;

M[20C]-2144: PA13; PA14; PA37; PA61; PA76; PA76; PA79; PA82;  
PA85; PB10; PB12; PB49; PB57; PB98; PC20; PC36; PC41; PC55;  
PC62; PC98;

M[20C]-2150: PA13; PA20; PA23; PA31; PA32; PA46; PA60; PA74;  
PA79; PB03; PB10; PB12; PB33; PB82; PC20; PC21; PC29; PC37;  
PC60; PC86;

M[20C]-2151: PA13; PA31; PA60; PA72; PA74; PA79; PA88; PA92;  
PB03; PB12; PB60; PB83; PC11; PC20; PC26; PC29; PC37; PC60;  
PC68; PC86;

M[20C]-2152: PA13; PA17; PA31; PA53; PA60; PA74; PA79; PB03;  
PB06; PB12; PB50; PC20; PC20; PC27; PC29; PC37; PC60; PC86;  
PC97; PD02;

M[20C]-2153: PA02; PA13; PA28; PA31; PA40; PA60; PA74; PA79;  
PA93; PB03; PB12; PB18; PB51; PB77; PC20; PC29; PC37; PC58;  
PC60; PC86;

M[20C]-2154: PA13; PA31; PA60; PA61; PA74; PA76; PA76; PA79;  
PA82; PB03; PB10; PB12; PB57; PC20; PC29; PC36; PC37; PC41;  
PC60; PC86;

M[20C]-2155: PA12; PA13; PA14; PA30; PA31; PA60; PA74; PA79;  
PA94; PB00; PB03; PB08; PB12; PC02; PC14; PC20; PC29; PC37;  
PC60; PC86;

M[20C]-2163: PA06; PA13; PA17; PA20; PA23; PA72; PA79; PA80;  
PA92; PB01; PB03; PB10; PB12; PB33; PB57; PB82; PC20; PC62;  
PC86; PC97;

M[20C]-2164: PA13; PA17; PA20; PA41; PA79; PA80; PA86; PA92;  
PB03; PB10; PB12; PC20; PC26; PC27; PC29; PC55; PC60; PC62;  
PC86; PC97;

M[20C]-2214: PA13; PA37; PA41; PA79; PA86; PB00; PB10; PB12;  
PB49; PB82; PC20; PC26; PC27; PC29; PC55; PC60; PC62; PC66;  
PC86;

M[20C]-2234: PA13; PA41; PA79; PA85; PA86; PB12; PB31; PB50;  
PB77; PC14; PC20; PC26; PC27; PC29; PC55; PC55; PC60; PC62;  
PC98;

M[20C]-2241: PA10; PA13; PA14; PA23; PA36; PA37; PA46; PA79;  
PB00; PB10; PB11; PB12; PB17; PB57; PC20; PC27; PC29; PC37;  
PC64; PC68;

M[20C]-2242: PA13; PA14; PA17; PA23; PA36; PA37; PA60; PA61;  
PA76; PA79; PA82; PB00; PB06; PB12; PB49; PC20; PC27; PC29;  
PC68; PC98;

M[20C]-2243: PA13; PA14; PA23; PA36; PA37; PA52; PA53; PA73;  
PA79; PA92; PB00; PB01; PB12; PB18; PB60; PC20; PC20; PC27;  
PC29; PC68;

M[20C]-2248: PA13; PA14 (2 ложки); PA23; PA25; PA36; PA36; PA37;  
PA46; PA79; PA85; PB00; PB12; PC02; PC20; PC27; PC29; PC29;  
PC55; PC68;

M[20C]-2249: PA10; PA13; PA14; PA23; PA36; PA37; PA53; PA74;  
PA79; PA92; PB00; PB12; PC20; PC27; PC29; PC62; PC67; PC68;  
PC86; PC97;

M[20C]-2250: PA13; PA23; PA37; PA76; PA79; PB10; PB12; PB33;  
PB50; PB82; PB82; PB85; PB98; PC01; PC11; PC20; PC45; PC55;  
PC60; PD02;

M[20C]-2253: PA13; PA37; PA52; PA53; PA73; PA79; PA92; PB01;  
PB10; PB12; PB18; PB33; PB50; PB60; PB82; PB85; PC01; PC20;  
PC20; PC45;

M[20C]-2254: PA11; PA13; PA17; PA27; PA37; PA79; PB00; PB10;  
PB12; PB33; PB50; PB82; PB83; PB85; PB92; PB98; PC01; PC20;  
PC27; PC45;

M[20C]-2255: PA13; PA36; PA37; PA53; PA72; PA79; PA80; PB03;  
PB10; PB12; PB33; PB49; PB50; PB82; PB82; PB85; PC01; PC20;  
PC45; PC68;

M[20C]-2256: PA13; PA23; PA37; PA53; PA61; PA79; PA85; PB10;  
PB12; PB33; PB50; PB60; PB82; PB85; PC01; PC11; PC20; PC29;  
PC45; PD02;

M[20C]-2257: PA13; PA37; PA37; PA60; PA72; PA79; PB10; PB12;  
PB33; PB49; PB50; PB82; PB85; PC01; PC08; PC20; PC45; PC68;  
PC98; PD02;

M[20C]-2258: PA13; PA14; PA25; PA36; PA37; PA46; PA79; PA85;  
PB10; PB12; PB33; PB50; PB82; PB85; PC01; PC02; PC20; PC29;  
PC45; PC55;

M[20C]-2259: PA10; PA13; PA37; PA53; PA74; PA79; PA92; PB10;  
PB12; PB33; PB50; PB82; PB85; PC01; PC20; PC45; PC62; PC67;  
PC86; PC97;

M[20C]-2261: PA10; PA13; PA23; PA36; PA37; PA46; PA53; PA73;  
PA79; PA97; PB10; PB11; PB12; PB17; PB57; PC20; PC26; PC29;  
PC37; PC64;

M[20C]-2278: PA10; PA13; PA14; PA25; PA28; PA30; PA36; PA37;  
PA41; PA46; PA79; PA85; PB12; PB50; PB60; PC02; PC20; PC29;  
PC55; PC66;

M[20C]-2281: PA10; PA13; PA17; PA46; PA52; PA79; PA82; PA92;  
PA96; PB10; PB11; PB12; PB17; PB57; PB98; PC20; PC36; PC37;  
PC64; PC86;

M[20C]-2321: PA13; PA46; PA53; PA79; PA82; PA92; PB03; PB10;  
PB11; PB12; PB83; PB85; PC20; PC20; PC21; PC55; PC60; PC86;  
PC97; PD02;

M[20C]-2406: PA13; PA37; PA46; PA53; PA79; PA85; PB01; PB05;  
PB10; PB11; PB12; PB17; PB49; PB98; PC20; PC36; PC37; PC45;  
PC58; PC67;

M[20C]-2420: PA10; PA13; PA14; PA36; PA46; PA79; PB10; PB10;  
PB11; PB11; PB12; PB17; PB17; PB33; PB82; PC20; PC54; PC55;  
PC68; PC98;

M[20C]-2441: PA00; PA13; PA14; PA17; PA17; PA37; PA37; PA46;  
PA74; PA79; PB00; PB03; PB10; PB12; PB49; PC08; PC20; PC35;  
PC62; PC86;

M[20C]-2443: PA00; PA13; PA14; PA14; PA17; PA36; PA37; PA79;  
PB00; PB01; PB10; PB12; PC02; PC08; PC11; PC20; PC29; PC62;  
PC67; PC86;

M[20C]-2449: PA00; PA13; PA14; PA17; PA36; PA37; PA60; PA79;  
PA85; PB00; PB10; PB12; PB82; PB98; PC08; PC20; PC29; PC62;  
PC86; PC98;

M[20C]-2451: PA10; PA13; PA17; PA23; PA37; PA46; PA74; PA76;  
PA79; PB00; PB03; PB08; PB10; PB12; PB49; PB49; PC20; PC35;  
PC97; PC98;

M[20C]-2460: PA08; PA13; PA14; PA36; PA36; PA46; PA79; PB10;  
PB11; PB12; PB17; PB17; PB98; PC20; PC36; PC54; PC62; PC68;  
PC68; PC86;

M[20C]-2488: PA10; PA13; PA37; PA46; PA53; PA74; PA79; PA82;  
PB00; PB00; PB12; PB49; PC20; PC29; PC37; PC45; PC54; PC74;  
PC86; PC98;

M[20C]-2545: PA00; PA08; PA10; PA13; PA46; PA73; PA76; PA79;  
PA90; PB01; PB08; PB10; PB12; PB17; PB33; PB33; PC20; PC55;  
PC68; PD02;

M[20C]-2551: PA13; PA14; PA16; PA27; PA36; PA79; PA82; PA92;  
PA95; PB10; PB12; PB57; PB85; PC11; PC20; PC29; PC29; PC54;  
PC64; PC98;

M[20C]-2553: PA13; PA16; PA23; PA60; PA79; PA82; PA95; PB00;  
PB10; PB10; PB12; PB33; PB49; PB50; PB85; PC02; PC11; PC20;  
PC29; PC98;

M[20C]-2555: PA00; PA10; PA13; PA16; PA79; PA82; PA90; PA95;  
PB08; PB10; PB10; PB12; PB33; PB85; PC11; PC20; PC29; PC68;  
PC98; PD02;

M[20C]-2580: PA10; PA13; PA25; PA37; PA40; PA46; PA79; PB11;  
PB12; PB33; PB49; PB82; PB85; PB98; PC20; PC29; PC29; PC36;  
PC45; PC97;

M[20C]-2589: PA13; PA14; PA17; PA40; PA46; PA79; PA80; PB11;  
PB12; PB33; PB49; PB85; PB98; PC20; PC26; PC29; PC37; PC86;  
PC97; PD02;

M[20C]-2622: PA13; PA25; PA36; PA36; PA37; PA46; PA46; PA79;  
PA82; PB12; PB49; PB82; PC20; PC20; PC54; PC55; PC64; PC68;  
PC86; PC98;

M[20C]-2627: PA13; PA14; PA36; PA46; PA76; PA79; PA80; PA96;  
PB12; PB49; PB49; PC20; PC20; PC45; PC54; PC55; PC64; PC97;  
PC98; PC98;

M[20C]-2641: PA05; PA13; PA16; PA27; PA36; PA37; PA41; PA79;  
PA96; PB05; PB10; PB12; PB82; PB85; PB98; PC11; PC20; PC54;  
PC68; PD02;

M[20C]-2651: PA13; PA36; PA41; PA46; PA79; PA92; PB00; PB01;  
PB05; PB12; PB33; PB82; PB82; PB85; PB98; PC20; PC54; PC55;  
PC86; PD02;

M[20C]-2654: PA13; PA36; PA46; PA79; PA92; PB00; PB00; PB01;  
PB08; PB11; PB12; PB33; PB82; PC01; PC20; PC55; PC55; PC64;  
PC86; PC86;

M[20C]-2717: PA13; PA14; PA46; PA79; PB00; PB10; PB12; PB49;  
PB50; PB77; PB85; PB85; PC02; PC20; PC29; PC64; PC64; PC68;  
PC98; PD02;

M[20C]-2728: PA05; PA13; PA16; PA30; PA46; PA60; PA61; PA79;  
PA85; PB04; PB10; PB12; PB49; PB82; PB82; PB85; PB98; PC11;  
PC20; PC37;

M[20C]-2730: PA13; PA36; PA37; PA46; PA61; PA79; PA82; PA85;  
PB00; PB12; PB17; PB33; PB82; PB85; PC01; PC02; PC20; PC29;  
PC64; PC98;

M[20C]-2738: PA05; PA13; PA37; PA46; PA61; PA61; PA79; PA85;  
PB10; PB12; PB82; PB82; PB85; PB85; PB98; PC02; PC20; PC29;  
PC37; PC64;

M[20C]-2788: PA00; PA05; PA13; PA27; PA46; PA61; PA79; PA82;  
PB00; PB10; PB12; PB82; PB85; PB85; PB98; PC20; PC37; PC37;  
PC58; PC97;

M[20C]-2805: PA11; PA13; PA13; PA14; PA22; PA23; PA28; PA33;  
PA35; PA69; PB07; PB12; PB38; PB88; PB88; PC20; PC24; PC55;  
PC55; PC60;

M[20C]-2812: PA11; PA11; PA13; PA20; PA23; PA29; PA30; PA83;  
PA98; PB02; PB12; PB27; PB38; PC11; PC11; PC20; PC23; PC37;  
PC51; PC60;

M[20C]-2815: PA11; PA13; PA14; PA22; PA23; PA29; PA33; PA35;  
PA98; PB02; PB12; PB27; PB38; PB38; PB88; PC11; PC20; PC23;  
PC37; PC55;

M[20C]-2840: PA10; PA11; PA12 (2 ложки); PA13; PA14; PA18; PA28;  
PA33; PA67; PA67; PB07 (2 ложки); PB12; PB60; PC23; PC35; PC37;  
PC55; PC67;

M[20C]-2841: PA12; PA13 (2 ложки); PA19; PA22; PA28; PA33; PA67;  
PB07 (2 ложки); PB12; PB36; PC20; PC23; PC33; PC37; PC49; PC55;  
PC67; PC97;

M[20C]-2842: PA11; PA12; PA13 (2 ложки); PA20; PA28; PA30; PA33;  
PA67; PA83; PB07; PB12 (2 ложки); PC11; PC20; PC23; PC37; PC51;  
PC60; PC67;

M[20C]-2843: PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA24; PA26; PA28;  
PA33; PA67; PB07; PB12; PB33; PB88; PC12; PC23; PC23; PC27;  
PC37; PC67;

M[20C]-2844: PA12; PA13; PA13; PA15; PA18; PA20; PA28; PA32;  
PA33; PA67 (2 ложки); PB07; PB12; PB12; PC20; PC23; PC37; PC49;  
PC55; PC67;

M[20C]-2845: PA12; PA13 (2 ложки); PA14; PA22; PA28; PA33; PA33;  
PA35; PA67; PB07; PB12 (2 ложки); PB38; PB88; PC20; PC23; PC37;  
PC55; PC67;

M[20C]-2847: PA10; PA12; PA13 (2 ложки); PA26; PA28; PA33; PA57;  
PA67; PB02; PB07; PB07; PB12; PB28; PC11; PC23; PC23; PC37;  
PC49; PC67;

M[20C]-2849: PA12; PA13 (2 ложки); PA14; PA25; PA26; PA28; PA33;  
PA39; PA52; PA57; PA67; PB07; PB12; PB33; PC23; PC37; PC67;  
PC71; PC97;

M[20C]-2852: PA11; PA13; PA20 (2 ложки); PA23; PA24; PA30; PA67;  
PA83; PB07; PB12; PB28; PB33; PC11; PC12; PC20; PC20; PC21;  
PC51; PC60;

M[20C]-2854: PA13; PA15; PA18; PA20 (2 ложки); PA23; PA24; PA32;  
PA67 (2 ложки); PB07; PB12; PB28; PB33; PC12; PC20 (2 ложки);  
PC21; PC49; PC55;

M[20C]-2855: PA13; PA14; PA20; PA22; PA23; PA24; PA33; PA35;  
PA67; PB07; PB12; PB28; PB33; PB38; PB88; PC12; PC20; PC21;  
PC55;

M[20C]-2893: PA00; PA06; PA11; PA12; PA13; PA23; PA26; PA28;  
PA33; PA39; PB02; PB07 (2 ложки); PB12; PB99; PC14; PC20; PC49;  
PC98; PD02;

M[20C]-2897: PA11 (2 ложки); PA13; PA14; PA24; PA29; PA39; PA83;  
PB02; PB07; PB12; PB60; PB99; PC11; PC14; PC20; PC20; PC49;  
PC51; PC98;

M[20C]-2930: PA11; PA13; PA14; PA23; PA26; PA28; PA33; PA35;  
PA83; PB12; PB28; PB33; PB38; PB77; PB88; PC20; PC23; PC37;  
PC60; PC60;

M[20C]-2933: PA00; PA06; PA11; PA12; PA13; PA14; PA23; PA26;  
PA28 (2 ложки); PA33; PA33; PB07; PB12; PB12; PB28; PB38; PB77;  
PC60; PD02;

M[20C]-2935: PA10; PA11; PA13; PA14; PA28; PA29; PA33; PA57;  
PA67; PB07; PB12; PB28 (2 ложки); PB38; PB77; PB77; PC11; PC20;  
PC52; PC60;

M[20C]-2936: PA11 (2 ложки); PA13; PA14; PA18; PA28; PA33; PA57;  
PA67; PB02; PB12; PB28; PB38 (2 ложки); PC11; PC20; PC27; PC52;  
PC60;

M[20C]-2937: PA11; PA11; PA13; PA14 (3 ложки); PA28; PA29; PA33;  
PA83; PB12 (2 ложки); PB28; PB38; PB60; PB77; PC11; PC20; PC51;  
PC60;

M[20C]-2939: PA10; PA11; PA12; PA13 (2 ложки); PA14; PA18; PA26;  
PA28; PA33 (2 ложки); PA39; PB12; PB28; PB38; PB77; PC20; PC52;  
PC55; PC60;

M[20C]-2943: PA00; PA06; PA10; PA11; PA12; PA13; PA14; PA23;  
PA26; PA28; PA33; PB07 (2 ложки); PB12; PB27; PC11; PC20; PC23;  
PC67; PD02;

М[20С]-2947: РА10; РА11 (2 ложки); РА13; РА14 (2 ложки); РА24; РА29; РА83; РВ07; РВ12; РВ27; РВ60; РС11 (2 ложки); РС20 (2 ложки); РС23; РС51; РС67;

М[20С]-2953: РА00; РА06; РА12 (2 ложки); РА13; РА14; РА23 (2 ложки); РА26; РА28; РА33 (2 ложки); РВ01; РВ07 (2 ложки); РВ12; РС20; РС27; РС52; РД02;

М[20С]-2957: РА11; РА12; РА13; РА14 (2 ложки); РА23; РА24; РА29; РА33; РА83; РВ01; РВ07; РВ12; РВ60; РС11; РС20 (2 ложки); РС27; РС51; РС52.

**Таблица 10-2: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе смесей из Перечня 10-2 при разведении 1:20**

|             | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| М[03С]-051  | 37%                           | 24%                                 |
| М[03С]-054  | 30%                           | 13%                                 |
| М[03С]-057  | 27%                           | 22%                                 |
| М[20С]-2083 | 84%                           | 55%                                 |
| М[20С]-2084 | 72%                           | 40%                                 |
| М[20С]-2085 | 70%                           | 45%                                 |
| М[20С]-2090 | 57%                           | 46%                                 |
| М[20С]-2091 | 66%                           | 35%                                 |
| М[20С]-2092 | 71%                           | 43%                                 |
| М[20С]-2100 | 56%                           | 40%                                 |
| М[20С]-2102 | 53%                           | 41%                                 |
| М[20С]-2104 | 60%                           | 43%                                 |
| М[20С]-2105 | 81%                           | 55%                                 |
| М[20С]-2110 | 59%                           | 43%                                 |
| М[20С]-2111 | 63%                           | 46%                                 |
| М[20С]-2120 | 66%                           | 28%                                 |
| М[20С]-2122 | 72%                           | 37%                                 |
| М[20С]-2131 | 54%                           | 37%                                 |

|             | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| М[20С]-2321 | 55%                           | 30%                                 |
| М[20С]-2406 | 58%                           | 31%                                 |
| М[20С]-2420 | 55%                           | 34%                                 |
| М[20С]-2441 | 52%                           | 36%                                 |
| М[20С]-2443 | 58%                           | 33%                                 |
| М[20С]-2449 | 55%                           | 32%                                 |
| М[20С]-2451 | 53%                           | 28%                                 |
| М[20С]-2460 | 54%                           | 37%                                 |
| М[20С]-2488 | 54%                           | 27%                                 |
| М[20С]-2545 | 52%                           | 29%                                 |
| М[20С]-2551 | 52%                           | 29%                                 |
| М[20С]-2553 | 52%                           | 27%                                 |
| М[20С]-2555 | 58%                           | 39%                                 |
| М[20С]-2580 | 58%                           | 44%                                 |
| М[20С]-2589 | 56%                           | 35%                                 |
| М[20С]-2622 | 57%                           | 40%                                 |
| М[20С]-2627 | 58%                           | 39%                                 |
| М[20С]-2641 | 53%                           | 36%                                 |

|             |     |     |
|-------------|-----|-----|
| M[20C]-2135 | 59% | 40% |
| M[20C]-2137 | 78% | 50% |
| M[20C]-2140 | 60% | 35% |
| M[20C]-2141 | 56% | 40% |
| M[20C]-2142 | 61% | 34% |
| M[20C]-2143 | 77% | 37% |
| M[20C]-2144 | 74% | 39% |
| M[20C]-2150 | 65% | 27% |
| M[20C]-2151 | 61% | 34% |
| M[20C]-2152 | 66% | 32% |
| M[20C]-2153 | 82% | 50% |
| M[20C]-2154 | 67% | 26% |
| M[20C]-2155 | 63% | 32% |
| M[20C]-2163 | 61% | 40% |
| M[20C]-2164 | 70% | 35% |
| M[20C]-2214 | 76% | 37% |
| M[20C]-2234 | 56% | 31% |
| M[20C]-2241 | 60% | 40% |
| M[20C]-2242 | 59% | 33% |
| M[20C]-2243 | 63% | 38% |
| M[20C]-2248 | 84% | 49% |
| M[20C]-2249 | 63% | 36% |
| M[20C]-2250 | 58% | 36% |
| M[20C]-2253 | 76% | 37% |
| M[20C]-2254 | 55% | 25% |
| M[20C]-2255 | 60% | 29% |
| M[20C]-2256 | 58% | 30% |
| M[20C]-2257 | 59% | 25% |
| M[20C]-2258 | 81% | 39% |
| M[20C]-2259 | 60% | 29% |
| M[20C]-2261 | 52% | 25% |

|             |     |     |
|-------------|-----|-----|
| M[20C]-2651 | 53% | 33% |
| M[20C]-2654 | 53% | 35% |
| M[20C]-2717 | 55% | 30% |
| M[20C]-2728 | 56% | 24% |
| M[20C]-2730 | 55% | 27% |
| M[20C]-2738 | 52% | 26% |
| M[20C]-2788 | 56% | 25% |
| M[20C]-2805 | 71% | 25% |
| M[20C]-2812 | 54% | 31% |
| M[20C]-2815 | 52% | 29% |
| M[20C]-2840 | 55% | 31% |
| M[20C]-2841 | 51% | 31% |
| M[20C]-2842 | 53% | 35% |
| M[20C]-2843 | 58% | 34% |
| M[20C]-2844 | 76% | 42% |
| M[20C]-2845 | 46% | 33% |
| M[20C]-2847 | 61% | 41% |
| M[20C]-2849 | 76% | 32% |
| M[20C]-2852 | 77% | 32% |
| M[20C]-2854 | 57% | 27% |
| M[20C]-2855 | 66% | 35% |
| M[20C]-2893 | 61% | 37% |
| M[20C]-2897 | 66% | 36% |
| M[20C]-2930 | 81% | 52% |
| M[20C]-2933 | 60% | 32% |
| M[20C]-2935 | 65% | 34% |
| M[20C]-2936 | 68% | 41% |
| M[20C]-2937 | 78% | 41% |
| M[20C]-2939 | 77% | 44% |
| M[20C]-2943 | 67% | 29% |
| M[20C]-2947 | 71% | 40% |

|                 |     |     |                 |     |     |
|-----------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|
| M[20C]-<br>2278 | 53% | 25% | M[20C]-<br>2953 | 66% | 38% |
| M[20C]-<br>2281 | 56% | 26% | M[20C]-<br>2957 | 71% | 45% |

**Перечень 10-3: растительные композиции обработанных образцов, содержащие: *Camellia sinensis* (PA21), *Arctostaphylos uva-ursi* (PB12) и по меньшей мере одно из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera var. tinctorial* (PA22), *Desmodium adscendens* (PB07):**

M[03C]-052: PA21; PB12; PC20;

M[03C]-055: PA21; PB12; PB07;

M[03C]-058: PA21; PB12; PA22;

M[20C]-2888: PA14; PA15; PA18; PA21; PA21; PA23; PA26; PA28; PA28; PA29; PA39; PA57; PA75; PB07; PB12; PB36; PC11; PC55; PC55; PC60;

M[20C]-2913: PA00; PA06; PA12; PA21; PA23; PA26; PA26; PA27; PA28; PA33; PB07; PB07; PB12 (2 ложки); PB33; PC20; PC24; PC41; PC71; PD02;

M[20C]-2918: PA15; PA18; PA21 (2 ложки); PA23; PA26; PA27; PA28; PA57; PB07 (2 ложки); PB12 (2 ложки); PB33; PC11; PC20; PC24; PC41; PC55; PC71;

M[20C]-2920: PA20; PA21; PA23; PA26; PA28; PA35; PA35; PA67; PA83; PB12; PB33; PB88; PC12; PC20; PC23; PC37; PC37; PC60 (2 ложки); PC74;

M[20C]-2923: PA00; PA06; PA12; PA20; PA21; PA23; PA26; PA28 (2 ложки); PA33; PA35; PA67; PB07; PB12 (2 ложки); PC12; PC37; PC60; PC74; PD02;

M[20C]-2928: PA15; PA18; PA20; PA21 (2 ложки); PA23; PA28 (2 ложки); PA35; PA57; PA67; PB07; PB12 (2 ложки); PC11; PC12; PC37; PC55; PC60; PC74;

M[20C]-2887: PA11; PA14; PA14; PA21; PA24; PA26; PA28; PA29 (2 ложки); PA39; PA75; PA83; PB12; PB36; PB60; PC11; PC20; PC51; PC55; PC60;

M[20C]-2914: PA11; PA21 (2 ложки); PA26; PA27; PA28; PA39; PA70; PB02; PB07; PB12; PB33; PB99; PC20; PC24; PC41; PC71 (2 ложки); PC97; PC98;

M[20C]-2915: PA10; PA21; PA26; PA27; PA29; PA57; PA67; PB07 (2

ложки); PB12; PB28; PB33; PB77; PC11; PC20 (2 ложки); PC24; PC41; PC52; PC71;

M[20C]-2916: PA11; PA18; PA21; PA26; PA27; PA57; PA67; PB02; PB07; PB12; PB33; PB38; PC11; PC20; PC20; PC24; PC27; PC41; PC52; PC71;

M[20C]-2917: PA11; PA14; PA21; PA24; PA26; PA27; PA29; PA83; PB07; PB12 (2 ложки); PB33; PB60; PC11; PC20 (2 ложки); PC24; PC41; PC51; PC71;

M[20C]-2925: PA10; PA20; PA21; PA28; PA29; PA35; PA57; PA67 (2 ложки); PB07; PB12; PB28; PB77; PC11; PC12; PC20; PC37; PC52; PC60; PC74;

M[20C]-2926: PA11; PA18; PA20; PA21; PA28; PA35; PA57; PA67 (2 ложки); PB02; PB12; PB38; PC11; PC12; PC20; PC27; PC37; PC52; PC60; PC74;

M[20C]-2927: PA11; PA14; PA20; PA21; PA24; PA28; PA29; PA35; PA67; PA83; PB12; PB12; PB60; PC11; PC12; PC20; PC37; PC51; PC60; PC74;

M[20C]-2910: PA21; PA23; PA26 (2 ложки); PA27; PA35; PA83; PB07; PB12; PB33 (2 ложки); PB88; PC20 (2 ложки); PC23; PC24; PC37; PC41; PC60; PC71.

**Таблица 10-3: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе смесей из Перечня 10-2 при разведении 1: 20**

|                 | Ингибировани<br>е роста<br>планктона | Ингибировани<br>е<br>образования<br>биопленки |                 | Ингибировани<br>е роста<br>планктона | Ингибировани<br>е<br>образования<br>биопленки |
|-----------------|--------------------------------------|---|-----------------|--------------------------------------|---|
| M[03C]-<br>052  | 31%                                  | 13%   | M[20C]-<br>2887 | 46%                                  | 8%  |
| M[03C]-<br>055  | 29%                                  | 10%   | M[20C]-<br>2914 | 29%                                  | 38%   |
| M[03C]-<br>058  | 31%                                  | 18%   | M[20C]-<br>2915 | 30%                                  | 35%   |
| M[20C]-<br>2888 | 48%                                  | 27%   | M[20C]-<br>2916 | 39%                                  | 40%   |
| M[20C]-<br>2913 | 46%                                  | 37%   | M[20C]-<br>2917 | 40%                                  | 41%   |
| M[20C]-<br>2918 | 46%                                  | 32%   | M[20C]-<br>2925 | 41%                                  | 36%   |
| M[20C]-<br>2920 | 54%                                  | 30%   | M[20C]-<br>2926 | 47%                                  | 36%   |
| M[20C]-<br>2923 | 51%                                  | 28%   | M[20C]-<br>2927 | 41%                                  | 41%   |

|                 |     |     |                 |     |     |
|-----------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|
| М[20С]-<br>2928 | 46% | 32% | М[20С]-<br>2910 | 46% | 39% |
|-----------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|

Перечень 10-4: экстракты из растительных композиций, содержащих: *Filipendula ulmaria* (PA13), *Camellia sinensis* (PA21), *Arctostaphylos uva-ursi* (PB12) и по меньшей мере одно из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera var. tinctorial* (PA22), *Desmodium adscendens* (PB07):

М[04С]-025: PA13; PA21; PB12; PC20;

М[04С]-026: PA13; PA21; PB12; PB07;

М[04С]-027: PA13; PA21; PB12; PA22;

М[20С]-2898: PA11; PA13; PA15; PA18; PA21; PA23; PA28; PA39; PA57; PB02; PB07 (2 ложки); PB07; PB12; PB99; PC11; PC14; PC20; PC49; PC55; PC98;

М[20С]-2900: PA10; PA11; PA13; PA21; PA23; PA25; PA26; PA35; PA69; PA83; PB12; PB32; PB33; PB88; PC20 (2 ложки); PC23; PC37; PC55; PC60;

М[20С]-2903: PA00; PA06; PA10; PA11; PA12; PA13; PA21; PA23; PA25; PA26; PA28; PA33; PA69; PB07; PB12 (2 ложки); PB32; PC20; PC55; PD02;

М[20С]-2908: PA10; PA11; PA13; PA15; PA18; PA21 (2 ложки); PA23; PA25; PA28; PA57; PA69; PB07; PB12 (2 ложки); PB32; PC11; PC20; PC55 (2 ложки);

М[20С]-2938: PA11; PA13; PA14; PA15; PA18; PA21; PA23; PA28 (2 ложки); PA33; PA57; PB07; PB12 (2 ложки); PB28; PB38; PB77; PC11; PC55; PC60;

М[20С]-2948: PA10; PA11; PA13; PA14; PA15; PA18; PA21; PA23; PA28; PA57; PB07 (2 ложки); PB12; PB27; PC11 (2 ложки); PC20; PC23; PC55; PC67;

М[20С]-2951: PA12; PA13 (2 ложки); PA14; PA21; PA23; PA24; PA33; PA39; PA67; PB01; PB07; PB12; PB77; PC20; PC27; PC33; PC49; PC52; PC60;

М[20С]-2952: PA12; PA13 (2 ложки); PA14; PA21; PA23; PA25; PA26; PA33; PA37; PA67; PB01; PB07 (2 ложки); PB12; PC20; PC27; PC49; PC52; PC71;

М[20С]-2958: PA12; PA13; PA14; PA15; PA18; PA21; PA23 (2 ложки); PA28; PA33; PA57; PB01; PB07 (2 ложки); PB12; PC11; PC20; PC27;

PC52; PC55;

M[20C]-2822: PA11 (2 ложки); PA13 (2 ложки); PA20 (2 ложки); PA21; PA25; PA29; PA30; PA33; PA35; PA75; PA83; PB12; PC11; PC20; PC33; PC51; PC60;

M[20C]-2824: PA11; PA13 (2 ложки); PA15; PA18; PA20 (2 ложки); PA21; PA25; PA29; PA32; PA33; PA35; PA67; PA75; PB12; PC20; PC33; PC49; PC55;

M[20C]-2825: PA11; PA13 (2 ложки); PA14; PA20; PA21; PA22; PA25; PA29; PA33 (2 ложки); PA35 (2 ложки); PA75; PB12; PB38; PB88; PC20; PC33; PC55;

M[20C]-2834: PA13 (2 ложки); PA15; PA18; PA20; PA21; PA22; PA25; PA29; PA32 (2 ложки); PA34; PA67; PB12; PB88; PC20; PC33; PC49; PC55; PC98;

M[20C]-2835: PA13 (2 ложки); PA14; PA21; PA22 (2 ложки); PA25; PA29; PA32; PA33; PA34; PA35; PB12; PB38; PB88 (2 ложки); PC20; PC33; PC55; PC98;

M[20C]-2848: PA12 (2 ложки); PA13 (2 ложки); PA18; PA21; PA24; PA28; PA33; PA67; PB07; PB12; PC23 (2 ложки); PC37; PC49; PC52; PC55; PC67; PC97;

M[20C]-2862: PA11; PA13; PA20; PA21; PA22; PA30; PA83; PB12; PB28; PB60; PC11 (2 ложки); PC20 (2 ложки); PC23; PC51; PC55; PC60 (2 ложки); PC74;

M[20C]-2864: PA13; PA15; PA18; PA20; PA21; PA22; PA32; PA67; PB12; PB28; PB60; PC11; PC20 (2 ложки); PC23; PC49; PC55 (2 ложки); PC60; PC74;

M[20C]-2865: PA13; PA14; PA21; PA22 (2 ложки); PA33; PA35; PB12; PB28; PB38; PB60; PB88; PC11; PC20 (2 ложки); PC23; PC55 (2 ложки); PC60; PC74;

M[20C]-2872: PA10; PA11 (2 ложки); PA13; PA20; PA21; PA30; PA35; PA57; PA83; PB07; PB12; PB77; PC11; PC20 (2 ложки); PC23; PC51; PC60; PC71;

M[20C]-2874: PA10; PA11; PA13; PA15; PA18; PA20; PA21; PA32; PA35; PA57; PA67; PB07; PB12; PB77; PC20 (2 ложки); PC23; PC49; PC55; PC71;

M[20C]-2875: A10; A11; A13; A14; A21; A22; A33; A35; A35; A57; B07; B12; B38; B77; B88; C20 (2 ложки); C23; C55; C71;

М[20С]-2882: РА13; РА14; РА21 (2 ложки); РА25; РА26 (2 ложки); РА28; РА29; РА37; РА39; РА67; РА75; РВ07; РВ12; РВ36; РС49; РС55; РС60; РС71;

М[20С]-2891: РА11; РА13 (2 ложки); РА21; РА24; РА39; РА39; РА67; РВ02; РВ07; РВ12; РВ77; РВ99; РС14; РС20; РС33; РС49 (2 ложки); РС60; РС98;

М[20С]-2892: РА11; РА13 (2 ложки); РА21; РА25; РА26; РА37; РА39; РА67; РВ02; РВ07 (2 ложки); РВ12; РВ99; РС14; РС20; РС49 (2 ложки); РС71; РС98;

М[20С]-2901: РА10; РА11; РА13 (2 ложки); РА21 (2 ложки); РА24; РА25; РА39; РА67; РА69; РВ12 (2 ложки); РВ32; РВ77; РС20; РС33; РС49; РС55; РС60;

М[20С]-2902: РА10; РА11; РА13 (2 ложки); РА21 (2 ложки); РА25 (2 ложки); РА26; РА37; РА67; РА69; РВ07; РВ12 (2 ложки); РВ32; РС20; РС49; РС55; РС71;

М[20С]-2904: РА10; РА11 (2 ложки); РА13; РА21 (2 ложки); РА25; РА28; РА39; РА69; РА70; РВ02; РВ12; РВ32; РВ99; РС20; РС55; РС71; РС97; РС98;

М[20С]-2905: РА10 (2 ложки); РА11; РА13; РА21; РА25; РА29; РА57; РА67; РА69; РВ07; РВ12; РВ28; РВ32; РВ77; РС11; РС20 (2 ложки); РС52; РС55;

М[20С]-2906: РА10; РА11 (2 ложки); РА13; РА18; РА21; РА25; РА57; РА67; РА69; РВ02; РВ12; РВ32; РВ38; РС11; РС20 (2 ложки); РС27; РС52; РС55;

М[20С]-2907: РА10; РА11 (2 ложки); РА13; РА14; РА21; РА24; РА25; РА29; РА69; РА83; РВ12 (2 ложки); РВ32; РВ60; РС11; РС20 (2 ложки); РС51; РС55;

М[20С]-2909: А10 (2 ложки); А11; А12; А13 (2 ложки); А18; А21; А25; А26; А33; А39; А69; В12; В32; С20 (2 ложки); С52; С55 (2 ложки);

М[20С]-2911: РА13; РА21 (2 ложки); РА24; РА26; РА27; РА39; РА67; РВ07; РВ12 (2 ложки); РВ33; РВ77; РС20; РС24; РС33; РС41; РС49; РС60; РС71;

М[20С]-2912: РА13; А21 (2 ложки); РА25; РА26 (2 ложки); РА27; РА37; РА67; РВ07 (2 ложки); РВ12 (2 ложки); РВ33; РС20; РС24; РС41; РС49; РС71 (2 ложки);

М[20С]-2919: РА10; РА12; РА13; РА18; РА21; РА26 (2 ложки); РА27; РА33; РА39; РВ07; РВ12; РВ33; РС20 (2 ложки); РС24; РС41; РС52; РС55; РС71;

М[20С]-2922: РА13; РА20; РА21 (2 ложки); РА25; РА26; РА28; РА35; РА37; РА67 (2 ложки); РВ07; РВ12 (2 ложки); РС12; РС37; РС49; РС60; РС71; РС74;

М[20С]-2929: РА10; РА12; РА13; РА18; РА20; РА21; РА26; РА28; РА33; РА35; РА39; РА67; РВ12; РС12; РС20; РС37; РС52; РС55; РС60; РС74;

М[20С]-2932: РА11; РА13 (2 ложки); РА14; РА21; РА25; РА26; РА28; РА33; РА37; РА67; РВ07; РВ12 (2 ложки); РВ28; РВ38; РВ77; РС49; РС60; РС71;

М[20С]-2941: РА10; РА11; РА13 (2 ложки); РА14; РА21; РА24; РА39; РА67; РВ07; РВ12; РВ27; РВ77; РС11; РС20; РС23; РС33; РС49; РС60; РС67;

М[20С]-2942: РА10; РА11; РА13 (2 ложки); РА14; РА21; РА25; РА26; РА37; РА67; РВ07 (2 ложки); РВ12; РВ27; РС11; РС20; РС23; РС49; РС67; РС71;

**Таблица 10-4: средний процент ингибирования роста планктона и процент эффективности ингибирования образования биопленки на 6 исследуемых штаммах *Staphylococcus aureus* обработанного образца на основе смесей из Перечня 10-4 при разведении 1:20**

|                 | Ингибировани<br>е роста<br>планктона | Ингибировани<br>е<br>образования<br>биопленки |
|-----------------|--------------------------------------|---|
| М[04С]-<br>025  | 57%                                  | 18%   |
| М[04С]-<br>026  | 48%                                  | 16%   |
| М[04С]-<br>027  | 49%                                  | 18%   |
| М[20С]-<br>2898 | 60%                                  | 21%   |
| М[20С]-<br>2900 | 78%                                  | 32%   |
| М[20С]-<br>2903 | 48%                                  | 28%   |
| М[20С]-<br>2908 | 54%                                  | 15%   |
| М[20С]-<br>2938 | 70%                                  | 26%   |
| М[20С]-<br>2948 | 56%                                  | 22%   |
| М[20С]-<br>2951 | 47%                                  | 17%   |

|                 | Ингибировани<br>е роста<br>планктона | Ингибировани<br>е<br>образования<br>биопленки |
|-----------------|--------------------------------------|---|
| М[20С]-<br>2872 | 59%                                  | 36%   |
| М[20С]-<br>2874 | 78%                                  | 39%   |
| М[20С]-<br>2875 | 83%                                  | 47%   |
| М[20С]-<br>2882 | 61%                                  | 28%   |
| М[20С]-<br>2891 | 70%                                  | 27%   |
| М[20С]-<br>2892 | 76%                                  | 39%   |
| М[20С]-<br>2901 | 59%                                  | 29%   |
| М[20С]-<br>2902 | 51%                                  | 30%   |
| М[20С]-<br>2904 | 62%                                  | 24%   |
| М[20С]-<br>2905 | 55%                                  | 37%   |

|             |     |     |
|-------------|-----|-----|
| M[20C]-2952 | 60% | 19% |
| M[20C]-2958 | 53% | 31% |
| M[20C]-2822 | 46% | 38% |
| M[20C]-2824 | 60% | 32% |
| M[20C]-2825 | 76% | 38% |
| M[20C]-2834 | 55% | 27% |
| M[20C]-2835 | 64% | 29% |
| M[20C]-2848 | 52% | 29% |
| M[20C]-2862 | 46% | 31% |
| M[20C]-2864 | 51% | 29% |
| M[20C]-2865 | 56% | 43% |

|             |     |     |
|-------------|-----|-----|
| M[20C]-2906 | 59% | 37% |
| M[20C]-2907 | 75% | 41% |
| M[20C]-2909 | 82% | 49% |
| M[20C]-2911 | 55% | 30% |
| M[20C]-2912 | 59% | 29% |
| M[20C]-2919 | 75% | 48% |
| M[20C]-2922 | 63% | 32% |
| M[20C]-2929 | 54% | 30% |
| M[20C]-2932 | 73% | 39% |
| M[20C]-2941 | 63% | 48% |
| M[20C]-2942 | 56% | 34% |

#### Сравнительный Пример 4

В качестве сравнительного Примера мы приводим несколько экстрактов растительных композиций, содержащих только 1 растение из 3: *Filipendula ulmaria* (PA13), *Camellia sinensis* (PA21), *Arctostaphylos uva-ursi* (PB12) и только 1 из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera* var. *tinctoria* (PA22), *Desmodium adscendens* (PB07).

5 растительных композиций, состав которых указан в Перечне 10-5, были приготовлены в соответствии с ранее описанным способом 1.

#### Перечень 10-5: экстракты из растительных композиций, содержащих следующие растения

M[20P]-318: PA15; PA21; PA34; PA35; PA82; PA83; PA85; PA92; PA96; PB03; PB07; PB26; PB30; PB36; PB79; PC11; PC49; PC91; PC92; PD10;

M[20P]-329: PA10; PA28; PA34; PA36; PA55; PA72; PA83; PA85; PA91; PB03; PB12; PB16; PB28; PB35; PB49; PB92; PC20; PC23; PC64; PC85;

M[20P]-333: PA04; PA05; PA13; PA16; PA22; PA39; PA51; PA55; PA57; PA72; PA82; PA92; PA98; PB05; PB20; PB36; PB43; PB74; PB77; PC37;

M[20P]-362: PA21; PA23; PA25; PA33; PA37; PA57; PA69; PA81; PA92; PB16; PB25; PB26; PB28; PB29; PB78; PC20; PC21; PC71;

PC83; PD02;

M[20P]-513: PA12; PA14; PA14; PA20; PA20; PA21; PA22; PA33; PA35; PA52; PA57; PA69; PB00; PB32; PB38; PC24; PC37; PC52; PC55; PC67;

Растительные композиции, содержащие 20 растительных порошков, готовили в соответствии с ранее описанным способом А.

Исходя из растительных композиций, соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 40 мл воды, содержащей 100 г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием следующих штаммов *Staphylococcus aureus*: ATCC 25923, ATCC 49476, ATCC 6538, ATCC 51740, ATCC 29213 и ATCC 14775 с конечными разведениями 1: 20 обработанных образцов.

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций Перечня 10-4, приведены в Таблице 10-5. Каждый процент является средним из 2 измерений одного и тех же условиях в двух разных лунках. Отрицательные проценты отражают стимуляцию роста и биопленки вместо желаемого ингибирования. Понятно, что такие экстракты являются очень слабыми, если вообще ингибируют, по сравнению с экстрактами из Примера 10.

**Таблица 10-5: средний процент ингибирования роста планктонных бактерий и средний процент ингибирования образования биопленки по всем исследуемым штаммам обработанных образцов, полученных из растительных композиций Перечня 10-4**

|            | Ингибирование роста планктона | Ингибирование образования биопленки |
|------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| M[20C]-318 | -10%                          | 0%                                  |
| M[20C]-329 | 12%                           | 9%                                  |
| M[20C]-333 | 3%                            | 18%                                 |
| M[20C]-362 | 22%                           | 3%                                  |
| M[20C]-513 | -21%                          | 21%                                 |

**Пример 11**

В этом Примере мы иллюстрируем антимикробную активность против 14 различных видов микроорганизмов, описанных в Таблице 11-1, из 10 экстрактов смесей, полученных из растительных композиций, раскрытых в Перечне 11-1, содержащих по меньшей мере 2 растения из 3: *Filipendula ulmaria* (PA13), *Camellia sinensis* (PA21), *Arctostaphylos uva-ursi* (PB12) и по меньшей мере 1 растение из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera var. tinctorial* (PA22), и *Desmodium adscendens* (PB07).

**Таблица 11-1: микробные виды и штаммы, используемые в Примере 11**

| Полное название штамма   | Шифр штамма | Концентрация инокулюма (бактерий/мл) |
|--|-------------|--------------------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> (MRSA) ATCC® 33592™                       | B-A49       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 14990™                                       | B-A08       | 2,10 <sup>5</sup>                    |
| <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> ATCC® 49444™                                  | B-A09       | 2,10 <sup>5</sup>                    |
| <i>Candida albicans</i> ATCC® 60193™   | B-A61       | 2.10 <sup>6.5</sup>                  |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC® 11775™   | B-A67       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC® 13883™  | B-A68       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Listeria innocua</i> ATCC® 33090™   | B-A69       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC® 19115™   | B-A70       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853™   | B-A71       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> серовар <i>Enteritidis</i> ATCC® 13076™   | B-A72       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Salmonella enterica subsp. enterica</i> , серовар <i>Typhimurium</i> ATCC® 13311™ | B-A73       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 27336™   | B-A75       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Streptococcus equi subsp. zooepidemicus</i> ATCC® 43079™                          | B-A77       | 2.10 <sup>5.5</sup>                  |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® BAA-1323™  | B-B26       | 2.10 <sup>6.5</sup>                  |

**Перечень 11-1: экстракты из растительных композиций, содержащих: *Filipendula ulmaria* (PA13), *Camellia sinensis* (PA21) и по меньшей мере одно из 3: *Eugenia caryophyllus* (PC20), *Vitis vinifera var. tinctoria* (PA22), *Desmodium adscendens* (PB07), используемых в Примере-11:**

M[20P]-297: PA10; PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA29; PA33; PA57; PA67; PA69; PB07; PB12; PB60; PC20; PC37;

PC49; PC98;

M[20P]-416: PA11; PA13; PA14; PA20; PA21; PA25; PA26; PA28; PA29; PA67; PA75; PB02; PB12; PB27; PB33; PB60; PB88; PC20; PC49; PC60;

M[20P]-418: PA10; PA11; PA12; PA13; PA21; PA22; PA23; PA24; PA26; PA39; PB07; PB12; PB38; PC11; PC12; PC20; PC23; PC24; PC49; PC55;

M[20P]-527: PA10; PA10; PA11; PA13; PA15; PA20; PA20; PA21; PA23; PA26 (3 ложки); PA33; PB08; PB12 (2 ложки); PB60; PB88; PC12; PC20;

M[20P]-557: PA00; PA10; PA20; PA21; PA23; PA24; PA29; PA57; PB07; PB12 (4 ложки); PC11 (2 ложки); PC12; PC20; PC51; PC55; PC67;

M[20P]-573: PA10; PA11; PA13 (3 ложки); PA14; PA18; PA21; PA23; PA29; PA67; PB00; PB07; PB12; PB33; PB77; PC11; PC52; PC60; PC71;

M[20P]-576: PA11 (2 ложки); PA12; PA13 (3 ложки); PA14 (2 ложки); PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37; PC49;

M[19P]-576: PA11 (2 ложки); PA12; PA13 (3 ложки); PA14 (2 ложки); PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37 ;

M[5P]-1: PA12; PA13; PA21; PA22; PB12;

M[5P]-2: PA11; PA13; PA21; PA22; PB12;

Для смесей M[5P]-1, M[5P]-2 и M[19P]-576 высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, France). Для других смесей высушенные растения фармацевтического качества были получены от «Pharmacie Fontgiève» (Клермон-Ферран, Франция, растения от PA00 до PB12) и «Pharmacie St Herem» (Клермон-Ферран, Франция, растения от PB13 до PD02).

Все растительные композиции из 20 растений были приготовлены в соответствии с ранее описанным способом А.

Исходя из растительных композиций, соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 40 мл воды, содержащей 100

г/л сахарозы, для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Растительные композиции М[19Р]-576, М[5Р]-1 и М[5Р]-2 готовили путем взвешивания каждого высушенного растения, как указано в Таблице 11-2.

**Таблица 11-2: масса высушенного растения (мг), используемого в растительных композициях М[19Р]-576, М[5Р]-1 и М[5Р]-2, используемых в Примере-11**

|            | РА11 | РА12 | РА13 | РА14 | РА20 | РА21 | РА22 | РА29 | РА39 | РВ12 | РВ60 | РС20 | РС26 | РС33 | РС37 |
|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| М[19Р]-576 | 409  | 145  | 573  | 316  | 277  | 271  | 207  | 380  | 207  | 247  | 206  | 236  | 198  | 187  | 154  |
| М[5Р]-1    |      | 903  | 1574 |      |      | 2237 | 1263 |      |      | 2022 |      |      |      |      |      |
| М[5Р]-2    | 756  |      | 720  |      |      | 1027 | 577  |      |      | 925  |      |      |      |      |      |

Исходя из растительных композиций, соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя, соответственно, 30 мл, 40 мл и 40 мл воды без сахарозы с соответственно М[19Р]-576, М[5Р]-1 и М[5Р]2, для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием следующих штаммов при указанных конечных разведениях обработанных образцов, приведенных в Таблице 11-3.

Средний процент ингибирования роста планктонных микроорганизмов приведен в Таблице 11-3.

**Таблица 11-3: процент ингибирования роста планктона на 14 исследуемых штаммах микроорганизмов обработанного образца композиции, раскрытой в Перечне 11-1**

|            | М[20С]-297 | М[20С]-416 | М[20С]-418 | М[20С]-527 | М[20С]-557 | М[20С]-573 | М[20С]-576 | М[19С]-576 | М[5Р]-1 | М[5Р]-2 |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|---------|---------|
| Разведение | 1: 10      | 1: 10      | 1: 10      | 1: 10      | 1: 10      | 1: 10      | 1: 10      | 1: 20      | 1: 20   | 1: 20   |
| В-А49      | 100%       | 100%       | 100%       | 100%       | 100%       | 100%       | 100%       | 100%       | 100%    | 100%    |
| В-А08      | 100%       | 99%        | 100%       | 100%       | 100%       | 98%        | 98%        | 100%       | 100%    | 100%    |
| В-А09      | 89%        | 97%        | 98%        | 99%        | 99%        | 100%       | 100%       | 100%       | 100%    | 100%    |
| В-А61      | 25%        | 69%        | 36%        | 45%        | 51%        | 55%        | 90%        | Н/О        | Н/О     | Н/О     |
| В-А67      | 45%        | 52%        | 59%        | 66%        | 62%        | 52%        | 39%        | 34%        | 55%     | 38%     |
| В-А68      | 100%       | 97%        | 100%       | 100%       | 100%       | 94%        | 92%        | 100%       | 100%    | 100%    |
| В-А69      | -1%        | 21%        | 21%        | 38%        | 30%        | 30%        | -1%        | 38%        | 100%    | 38%     |
| В-А70      | 39%        | 52%        | 53%        | 74%        | 54%        | 57%        | 32%        | 34%        | 100%    | 40%     |
| В-А71      | 63%        | 71%        | 69%        | 75%        | 75%        | 82%        | 71%        | 42%        | 100%    | 55%     |

|       |     |     |     |     |     |     |     |      |      |      |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
| В-А72 | 47% | 53% | 59% | 63% | 58% | 58% | 32% | 39%  | 62%  | 42%  |
| В-А73 | 59% | 59% | 59% | 71% | 72% | 58% | 32% | 42%  | 100% | 45%  |
| В-А75 | 51% | 52% | 63% | 71% | 63% | 57% | 31% | Н/О  | Н/О  | Н/О  |
| В-А77 | 40% | 47% | 64% | 68% | 59% | 58% | 40% | 100% | 100% | 100% |
| В-В26 | 58% | 64% | 72% | 70% | 74% | 42% | 93% | Н/О  | Н/О  | Н/О  |

Примечание: «Н/О» означает «не определено»

### Пример 12

В данном Примере мы проиллюстрируем антимикробную активность растительной смеси, причем этап экстракции осуществляли неводными растворителями: ацетоном, этилацетатом, этанолом – используемыми отдельно или в виде двойных смесей, как указано в Таблице 12-1. Сравнение с водой предоставлено.

**Таблица 12-1: композиция двойных смесей, используемых в Примере 12 для неводной экстракции**

| А) | Название двойного растворителя | Соотношение ацетона и этанола | В) | Название двойного растворителя | Соотношение этилацетата и этанола | С) | Название двойного растворителя | Соотношение этилацетата и ацетона |
|----|--------------------------------|-------------------------------|----|--------------------------------|-----------------------------------|----|--------------------------------|-----------------------------------|
|    | АС9ЕТ1                         | 90/10                         |    | ЕА9ЕТ1                         | 90/10                             |    | ЕА9АС1                         | 90/10                             |
|    | АС8ЕТ2                         | 80/20                         |    | ЕА8ЕТ2                         | 80/20                             |    | ЕА8АС2                         | 80/20                             |
|    | АС7ЕТ3                         | 70/30                         |    | ЕА7ЕТ3                         | 70/30                             |    | ЕА7АС3                         | 70/30                             |
|    | АС6ЕТ4                         | 60/40                         |    | ЕА6ЕТ4                         | 60/40                             |    | ЕА6АС4                         | 60/40                             |
|    | АС5ЕТ5                         | 50/50                         |    | ЕА5ЕТ5                         | 50/50                             |    | ЕА5АС5                         | 50/50                             |
|    | АС4ЕТ6                         | 40/60                         |    | ЕА4ЕТ6                         | 40/60                             |    | ЕА4АС6                         | 40/60                             |
|    | АС3ЕТ7                         | 30/70                         |    | ЕА3ЕТ7                         | 30/70                             |    | ЕА3АС7                         | 30/70                             |
|    | АС2ЕТ8                         | 20/80                         |    | ЕА2ЕТ8                         | 20/80                             |    | ЕА2АС8                         | 20/80                             |
|    | АС1ЕТ9                         | 10/90                         |    | ЕА1ЕТ9                         | 10/90                             |    | ЕА1АС9                         | 10/90                             |

Смесь высушенных растений М[20Р]-576 была составлена из Таблицы 12-2 и помещена во флакон объемом 500 мл и тщательно перемешана путем переворачивания и вращения вручную. Высушенные растения были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция), за исключением РС49, которое было получено от Siccararam (Обья, Франция).

**Таблица 12-2: перечень высушенных растений, составляющих М[20Р]-576, используемый в Примере 12**

| Высушенное растение | РА11 | РА12 | РА13 | РА14 | РА20 | РА21 | РА22 | РА29 | РА39 | РВ12 | РВ60 | РС20 | РС26 | РС33 | РС37 | РС49 |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Масса (г)           | 29,7 | 10,5 | 41,5 | 22,9 | 19,8 | 19,9 | 15,0 | 27,5 | 15,0 | 17,8 | 15,0 | 17,1 | 14,4 | 13,6 | 11,3 | 9,3  |

Для каждого исследуемого растворителя 5 г смеси высушенных растений помещали в окрашенный флакон объемом 100 мл (Schott,

Германия) со стержнем магнитной мешалки и добавляли 50 мл растворителя. Жидкую суспензию перемешивали магнитной мешалкой (RO 15P IKA, Германия) с максимальной скоростью в течение 48 часов при комнатной температуре. Каждую суспензию/раствор фильтровали под действием силы тяжести, используя 250-миллиметровый складчатый фильтр (J025106, Prats Dumas, Франция), помещенный в стеклянную воронку (Schott, Германия), помещенную в испарительную колбу. Колбу с жидкостью, которая пересекла фильтр, помещают в ротационный вакуумный испаритель (регулятор вакуума Rotavapor® R205+V800, Büchi, Швейцария) и выпаривание проводят при 35°C в вакууме, установленным так, чтобы он был ниже точки кипения растворителя, пока весь растворитель не испарится. Оставшийся материал взвешивают и растворяют в ДМСО (Acros Organic, США) достаточном для 10 г/л для образования экстрагированной смеси.

Два водных экстракта готовили в соответствии с ранее описанным способом В, причем ложки высушенных растений заменяли 2 г смеси высушенных растений M[20P]-576 из Примера 12, используя 40 мл воды для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией. Содержание сухого остатка одного из экстракта растительной смеси было определено путем взвешивания лиофилизированного остатка с использованием устройства для лиофильной сушки (FreeZone™ 2.5, Labconco США, с RZ6 Vacuubrand, Германия) замороженного экстракта.

Данные сухие остатки использовались для определения удельной активности различных экстрактов.

Биологическую активность каждой экстрагированной смеси определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием штаммов, указанных в Таблице 12-3, где разведение экстрагированной смеси составляло: 1: 20, 1: 40, 1: 80, 1: 160. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) была отмечена при визуальном наблюдении за лунками как самая низкая концентрация, при которой не наблюдается рост.

**Таблица 12-3: перечень бактериальных штаммов, используемых в Примере 12**





|                   |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <b>В-<br/>А49</b> | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| <b>В-<br/>А51</b> | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| <b>В-<br/>А22</b> | 500 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 |
| <b>В-<br/>А23</b> | 500 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 |
| <b>В-<br/>А24</b> | 500 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 |
| <b>В-<br/>А08</b> | 500 | 500 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 | 250 |

**Пример 13**

В данном Примере мы проиллюстрируем антимикробную активность растительных смесей, приготовленных в соответствии с ранее описанным способом В, где добавленный углевод выбирают из сахарозы, декстрозы, мальтозы и галактозы.

Смесь высушенных растений М[19Р]-576, М[5Р]-1 и М[5Р]-2 была составлена в соответствии с Таблицей 13-1 и помещена во флакон объемом 500 мл и тщательно перемешана путем переворачивания и вращения вручную. Высушенные растения были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция), за исключением РС49, которое было получено от Siccararam (Обья, Франция).

**Таблица 13-1: Перечень высушенных растений, образующих: А) смесь М[20Р]-576, В) смесь М[5Р]-1 и С), смесь М[5Р]-2, используемые в Примере 13.**

|                           |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |
|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| А)<br>Высушенное растение | РА11 | РА12 | РА13 | РА14 | РА20 | РА21 | РА22 | РА29 | РА39 | РВ12 | РВ60 | РС20 | РС26 | РС33 | РС37 | РС49 |
|---------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|

|           |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |     |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| Масса (г) | 29,7 | 10,5 | 41,5 | 22,9 | 19,8 | 19,9 | 15,0 | 27,5 | 15,0 | 17,8 | 15,0 | 17,1 | 14,4 | 13,6 | 11,3 | 9,3 |
|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|

|                           |      |      |      |      |      |                           |      |      |      |      |      |
|---------------------------|------|------|------|------|------|---------------------------|------|------|------|------|------|
| В)<br>Высушенное растение | РА12 | РА13 | РА21 | РА22 | РВ12 | С)<br>Высушенное растение | РА11 | РА13 | РА21 | РА22 | РВ12 |
| Масса (г)                 | 34,1 | 59,2 | 84,1 | 47,5 | 75,8 | Масса (г)                 | 56,9 | 54   | 76,9 | 43,4 | 69,4 |

Для каждой высушенной смеси растений экстракты готовили в соответствии с ранее описанным способом В, причем ложки высушенных растений заменяли 2 г смеси растений Примера 13,

используя 40 мл воды и количество углеводов, указанное в Таблице 13-3 для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией.

Содержание сухого остатка растительных смесей без углеводов определяли отдельно, путем взвешивания остатка лиофилизации, полученного с помощью устройства для лиофильной сушки (FreeZone™ 2.5, Labconco США, с RZ6 Vacuubrand, Германия), замороженного экстракта объемом 40 мл приготовленного в соответствии с ранее описанным способом В, при этом ложки высушенных растений заменяли 2 г смеси растений из Примера 13, используя 40 мл воды для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией. Данные сухие остатки использовали для определения удельной активности различных экстрактов, при этом углеводов рассматривали как адъювант и не учитывали как часть активного ингредиента.

Биологическую активность каждой экстрагированной смеси определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием штаммов, указанных в Таблице 13-2, при этом разведение экстрагированной смеси составляло: 1: 20, 1: 40, 1: 80, 1: 160. Минимальная ингибирующая концентрация (МИС) была отмечена при визуальном наблюдении за лунками как самая низкая концентрация, при которой не наблюдается рост.

**Таблица 13-2: перечень бактериальных штаммов, используемых в Примере 13**

| <i>Staphylococcus aureus</i> |              | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |              |
|------------------------------|--------------|-----------------------------------|--------------|
| NCTC 12493™                  | <b>В-А47</b> | ATCC® 12228™                      | <b>В-А22</b> |
| ATCC® 33591™                 | <b>В-А48</b> | ATCC® 700296™                     | <b>В-А23</b> |
| ATCC® 33592™                 | <b>В-А49</b> | ATCC® 49461™                      | <b>В-А24</b> |
| NCTC 43300™                  | <b>В-А51</b> | ATCC® 14990™                      | <b>В-А08</b> |

Результаты собраны в Таблицах 13-4.

**Таблица 13-3: МИС в мг/л экстрагированных смесей с использованием сахарозы, лактозы, декстрозы, мальтозы или галактозы для: А) смеси М[20Р]-576, В) смеси М[5Р]-1 и С), смеси М[5Р]-2**

| А)     | Сахароза | Лактоза             | Декстроза           | Мальтоза            | Галактоза           |
|--------|----------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| М[20Р] | 100g/    | 100g/   50g/   25g/ | 100g/   50g/   25g/ | 100g/   50g/   25g/ | 100g/   50g/   25g/ |

|              |          |         |       |       |           |       |       |          |       |       |           |       |       |
|--------------|----------|---------|-------|-------|-----------|-------|-------|----------|-------|-------|-----------|-------|-------|
| ] -576       | L        | L       | L     | L     | L         | L     | L     | L        | L     | L     | L         | L     | L     |
| <b>B-A47</b> | 725      | > 725   | > 725 | 725   | > 725     | > 725 | > 725 | > 725    | 725   | 725   | 725       | 725   | 725   |
| <b>B-A48</b> | 725      | > 725   | > 725 | 725   | > 725     | > 725 | > 725 | 725      | 725   | 725   | 725       | 725   | 725   |
| <b>B-A49</b> | 725      | > 725   | > 725 | 725   | > 725     | > 725 | > 725 | 725      | 725   | 725   | 725       | 725   | 725   |
| <b>B-A51</b> | 725      | > 725   | > 725 | 725   | > 725     | > 725 | > 725 | 725      | 725   | 725   | 725       | 725   | 725   |
| <b>B-A22</b> | 363      | 725     | 725   | 725   | 725       | 725   | 363   | 363      | 363   | 363   | 363       | 363   | 363   |
| <b>B-A23</b> | 363      | 725     | 725   | 363   | 725       | 725   | 363   | 363      | 363   | 363   | 363       | 363   | 363   |
| <b>B-A24</b> | 363      | 725     | 725   | 725   | 725       | 725   | 363   | 363      | 363   | 363   | 363       | 363   | 363   |
| <b>B-A08</b> | 725      | 725     | 725   | 725   | 725       | 725   | 725   | 363      | 363   | 363   | 363       | 363   | 363   |
| B)           | Сахароза | Лактоза |       |       | Декстроза |       |       | Мальтоза |       |       | Галактоза |       |       |
| M[5P]-1      | 100g/L   | 100g/L  | 50g/L | 25g/L | 100g/L    | 50g/L | 25g/L | 100g/L   | 50g/L | 25g/L | 100g/L    | 50g/L | 25g/L |
| <b>B-A47</b> | 327      | 327     | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   | 327      | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   |
| <b>B-A48</b> | 327      | 327     | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   | 327      | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   |
| <b>B-A49</b> | 327      | 327     | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   | 327      | 327   | 327   | 327       | 327   | 653   |
| <b>B-A47</b> | 327      | 327     | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   | 327      | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   |
| <b>B-A22</b> | 327      | 327     | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   | 163      | 163   | 163   | 163       | 327   | 327   |
| <b>B-A23</b> | 163      | 163     | 327   | 163   | 163       | 163   | 327   | 163      | 163   | 163   | 163       | 327   | 163   |
| <b>B-A24</b> | 327      | 327     | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   | 163      | 163   | 163   | 163       | 327   | 163   |
| <b>B-A08</b> | 327      | 327     | 327   | 327   | 327       | 327   | 327   | 163      | 327   | 327   | 163       | 327   | 327   |
| C)           | Сахароза | Лактоза |       |       | Декстроза |       |       | Мальтоза |       |       | Галактоза |       |       |
| M[5P]-2      | 100g/L   | 100g/L  | 50g/L | 25g/L | 100g/L    | 50g/L | 25g/L | 100g/L   | 50g/L | 25g/L | 100g/L    | 50g/L | 25g/L |
| <b>B-A47</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 344      | 344   | 344   | 344       | 344   | 688   |
| <b>B-A48</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 344      | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   |
| <b>B-A49</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 344      | 344   | 344   | 344       | 344   | 688   |
| <b>B-A51</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 688      | 344   | 688   | 344       | 344   | 688   |
| <b>B-A22</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 344      | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   |
| <b>B-A23</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 344      | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   |
| <b>B-A24</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 344      | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   |
| <b>B-A08</b> | 344      | 344     | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   | 344      | 344   | 344   | 344       | 344   | 344   |

**Пример 14**

В данном Примере мы иллюстрируем усиление антимикробной активности экстракта растительной смеси M[20P]-576 по отношению к обычно используемым антибиотикам.

**Таблица 14-1: виды и штаммы бактерий, используемые в Примере 14**

| Полное название штамма                                  | Шифр штамма |
|---|-------------|
| <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> ATCC® 25923™ | B-A17       |
| <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> ATCC® 29213™ | B-A21       |

**Перечень 14-1: растительные композиции обработанного образца, используемого Примере 14:**

M[19P]-576: PA11; PA12; PA13; PA14; PA20; PA21; PA22; PA29; PA39; PB12; PB60; PC20; PC26; PC33; PC37.

Высушенные растения фармацевтической степени чистоты были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция).

Растительные композиции M[19P]-576 готовили путем взвешивания каждого высушенного растения, как указано в Таблице 14-2.

**Таблица 14-2: масса высушенного растения (мг), используемого в растительных композициях M[19P]-576**

|            | PA11 | PA12 | PA13 | PA14 | PA20 | PA21 | PA22 | PA29 | PA39 | PB12 | PB60 | PC20 | PC26 | PC33 | PC37 |
|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| M[19P]-576 | 409  | 145  | 573  | 316  | 277  | 271  | 207  | 380  | 207  | 247  | 206  | 236  | 198  | 187  | 154  |

Исходя из растительной композиции, соответствующие водные экстракты (или обработанные образцы) готовили в соответствии с ранее описанным способом В, используя 2,06 г вышеуказанной растительной композиции с 40 мл воды с 100 г/л сахарозы для водной экстракции и включая этап декантации перед фильтрацией. В отдельном приготовлении водного экстракта без сахарозы, было измерено, что 2,06 г/40 мл растительной композиции соответствуют 14,5 г/л, как выводится из массы лиофилизированного сухого растительного экстракта.

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием следующих штаммов при указанных конечных разведениях обработанных образцов, приведенных в Таблице 14-3. В Примере 14 мы рассчитываем рост бактерий в присутствии смеси антибиотиков и/или растений по сравнению с ростом при отсутствии как антибиотиков, так и экстрактов растительных смесей.

Средний процент ингибирования роста планктонных бактерий приведен в Таблице 14-3.

Следует отметить, что присутствие растительного экстракта М[19Р]-576 имеет три эффекта при используемой концентрации: 1) он уменьшает рост бактерий при низкой концентрации и при отсутствии антибиотика, 2) он уменьшает увеличение роста бактерий, вызванное низкой концентрацией антибиотика относительно роста в отсутствии антибиотиков, и 3) он снижает минимальную ингибирующую концентрацию (МИС), соответственно, ванкомицина для В-А17 и ампициллина и пенициллина для В-А21 при концентрации М[20С]-576 начиная с 90,6 мкг/мл, 181,3 мкг/мл и 90,6 мкг/мл, соответственно.

**Таблица 14-3: рост планктона в присутствии различных концентраций экстракта и концентраций антибиотиков относительно роста бактерий при отсутствии экстракта и антибиотика на двух разных штаммах**

|            | Штамм | М[20С]-576 (мкг/мл) | Концентрация антибиотика (мкг/мл) |      |      |       |       |       |      |      |      |      |      |      |
|------------|-------|---------------------|-----------------------------------|------|------|-------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|
|            |       |                     | 0                                 | 3,91 | 7,81 | 15,63 | 31,25 | 62,50 | 125  | 250  | 500  | 1000 | 2000 | 4000 |
| Ампициллин | В-А17 | 0                   | 100%                              | 176% | 176% | 148%  | 131%  | 112%  | 2%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | -1%  |
|            |       | 90,6                | 57%                               | 64%  | 76%  | 75%   | 58%   | 18%   | 1%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 181,3               | 54%                               | 52%  | 53%  | 52%   | 31%   | 7%    | -4%  | -4%  | -4%  | -4%  | -5%  | -1%  |
|            | В-А21 | 0                   | 100%                              | 153% | 132% | 131%  | 132%  | 116%  | 150% | 113% | 112% | 106% | -1%  | 0%   |
|            |       | 90,6                | 64%                               | 108% | 83%  | 82%   | 82%   | 74%   | 83%  | 75%  | 83%  | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 181,3               | 42%                               | 44%  | 63%  | 70%   | 69%   | 70%   | 62%  | 62%  | 61%  | -2%  | -3%  | -2%  |
| Пенициллин | В-А17 | 0                   | 100%                              | 137% | 138% | 3%    | 1%    | 0%    | -1%  | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 90,6                | 53%                               | 39%  | 25%  | 1%    | 0%    | 0%    | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 181,3               | 51%                               | 23%  | 5%   | -3%   | -3%   | -3%   | -3%  | -2%  | -3%  | -4%  | -4%  | -2%  |
|            | В-А21 | 0                   | 100%                              | 135% | 116% | 115%  | 113%  | 108%  | 106% | 101% | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 90,6                | 65%                               | 104% | 83%  | 83%   | 84%   | 80%   | 74%  | 26%  | 0%   | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 181,3               | 44%                               | 62%  | 43%  | 70%   | 61%   | 60%   | 45%  | -3%  | -3%  | -3%  | -3%  | -3%  |
| Ванкомицин | В-А17 | 0                   | 100%                              | 135% | 118% | 114%  | 117%  | 115%  | 116% | 118% | 128% | 117% | 0%   | 0%   |
|            |       | 90,6                | 62%                               | 65%  | 66%  | 65%   | 74%   | 70%   | 67%  | 66%  | 63%  | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 181,3               | 42%                               | 40%  | 41%  | 53%   | 55%   | 55%   | 54%  | 46%  | 47%  | -3%  | -3%  | -2%  |
|            | В-А21 | 0                   | 100%                              | 118% | 117% | 113%  | 117%  | 110%  | 102% | 102% | 102% | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 90,6                | 45%                               | 102% | 82%  | 88%   | 77%   | 76%   | 77%  | 74%  | 67%  | 0%   | 0%   | 0%   |
|            |       | 181,3               | 58%                               | 48%  | 63%  | 57%   | 60%   | 57%   | 41%  | 57%  | 32%  | -2%  | -3%  | 0%   |

Пример 15

В данном Примере мы иллюстрируем, как корректировать температуру в способе В, чтобы справиться с промышленными ограничениями.

Экологически чистые высушенные растения были получены от «Herboristerie Cailleau» (Шемилье, Франция).

Растительные композиции М[5Р]-1 готовили путем взвешивания каждой высушенной травы, как указано в Таблице 15-1.

**Таблица 15-1: масса высушенного растения (мг), используемого в растительных композициях М[5Р]-1**

|         | РА12  | РА13  | РА21  | РА22  | РВ12  |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| М[5Р]-1 | 395,2 | 688,8 | 978,9 | 552,5 | 884,6 |

Первый экстракт М[5Р]-1-А готовили путем включения 120 г растительной композиции в 600 мл воды, содержащейся в химическом стакане объемом 2 л (Schott, Германия). Второй экстракт М[5Р]-1-В готовили, помещая 120 г растительной композиции в мешок из экологически чистого хлопка размером 25×30 см (Ecobags, США), и наполненный мешок помещали в 600 мл воды, содержащейся в стакане объемом 2 л (Schott, Германия). Третий экстракт М[5Р]-1-С готовили, дважды помещая 60 г растительной композиции в мешок из органического хлопка размером 25×30 см (Ecobags, США), и два заполненных пакета помещали в 600 мл воды, содержащейся в одном стакане объемом 2 л (Schott Германия). Каждый, соответственно, препараты М[5Р]-1-А, М[5Р]-1-В и М[5Р]-1-С, оставляли для мацерации в течение 3 часов при комнатной температуре, а затем помещали в химическом стакане в автоклав (VWR Vapour Line Eco 25, США) в течение 30 минут при соответственно 121 °С, 121 °С и 134 °С. Для каждого из М[5Р]-1-В и М[5Р]-1-С мешки из хлопка прессовали с помощью ручного пресса для фруктов 5 л (Brouwland, Бельгия) и извлеченную жидкость помещали обратно в химический стакан объемом 2 л. Каждый химический стакан оставляли для декантации, и необходимое количество супернатантной жидкости использовали для измерения его биологической активности.

**Таблица 15-2: виды и штаммы бактерий, используемые в Примере 15**

| Полное название штамма | Шифр штамма |
|------------------------|-------------|
|------------------------|-------------|

|   |       |
|---|-------|
| <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> ATCC® 25923™ | B-A17 |
| <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> ATCC® 29213™ | B-A21 |
| <i>Staphylococcus aureus subsp. aureus</i> ATCC® 33592™ | B-A49 |

Биологическую активность каждого обработанного образца определяли в соответствии с ранее описанным способом С с использованием штаммов, перечисленных в Таблице 15-2, в конечных разведениях 1: 40, 1: 80, 1: 160 и 1: 320. Разведение, соответствующее минимальной ингибирующей концентрации (MIC), было отмечено визуальным наблюдением за лунками как самая низкая концентрация, где не наблюдается роста, и занесено в Таблицу 15-3.

**Таблица 15-3: разведение, соответствующее минимальной ингибирующей концентрации (MIC) экстрактов, полученных с различными промышленными характеристиками и температурой**

|       | М[5P]-1-А при 121° | М[5P]-1-В при 121° | М[5P]-1-С при 134°С |
|-------|--------------------|--------------------|---------------------|
| B-A17 | 1/80               | 1/40               | 1/80                |
| B-A21 | 1/80               | 1/40               | 1/80                |
| B-A49 | 1/80               | 1/40               | 1/160               |

Следует отметить, что введение мешка из хлопка для облегчения производственного процесса несколько снизило активность экстракта по сравнению с неудовлетворительным процессом без мешка. Повышение температуры автоклава во время горячей фазы экстракции позволило восстановить полную активность.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Экстракт растительной композиции, содержащий по меньшей мере два высушенных растения, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, и по меньшей мере одно растение, выбранное из *Vitis vinifera* var. *tinctoria*, *Eugenia caryophyllus* и *Desmodium adscendens*.

2. Экстракт по п. 1, в котром указанная растительная композиция дополнительно содержит одно или более дополнительных высушенных растений, выбранных из: *Achillea millefolium*, *Acorus calamus*, *Agrimonia eupatoria*, *Agropyrum repens*, *Agropyrum repens*, *Alchemilla vulgaris*, *Alkanna tinctoria*, *Althaea officinalis*, *Anethum graveolens*, *Angelica archangelica*, *Arbutus unedo*, *Arnica montana*, *Artemisia pontica*, *Artemisia vulgaris*, *Asparagus officinalis*, *Asparagus officinalis*, *Asperula odorata*, *Betula pendula*, *Borrago officinalis*, *Buxus sempervirens*, *Calamintha officinalis*, *Calendula officinalis*, *Calluna vulgaris*, *Carum carvi*, *Cassia angustifolia*, *Centaurea cyanus*, *Centaureum erythraea*, *Centella asiatica*, *Cetraria islandica*, *Chamaemelum nobile*, *Chamomilla recutita*, *Chrysanthellum americanum*, *Cichorium endivia*, *Cichorium intybus*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Citrus aurantium*, *Combretum micranthum*, *Crataegus oxyacantha*, *Cuminum cyminum*, *Cupressus sempervirens*, *Curcuma zedoaria*, *Cynara scolymus*, *Cytisus scoparius*, *Desmodium adscendens*, *Elettaria cardamomum*, *Eleutherococcus senticosus*, *Epilobium parviflorum*, *Erysimum officinale*, *Eucalyptus globulus*, *Eugenia caryophyllus*, *Eupatorium cannabinum*, *Foeniculum vulgare*, *Fraxinus excelsior*, *Fucus vesiculosus*, *Fumaria officinalis*, *Galium odoratum*, *Gentiana lutea*, *Geranium robertianum*, *Ginkgo biloba*, *Glechoma hederacea*, *Glycyrrhiza glabra*, *Handroanthus impetiginosus*, *Harpagophytum procumbens*, *Hieracium pilosella*, *Humulus lupulus*, *Hypericum perforatum*, *Hyssopus officinalis*, *Illicium verum*, *Inula helenium*, *Juglans regia*, *Juniperus communis*, *Lamium album*, *Lavandula angustifolia*, *Levisticum officinale*, *Lippia citriodora*, *Lotus corniculatus*, *Lythrum salicaria*, *Malva sylvestris*, *Marrubium vulgare*, *Medicago sativa*, *Melissa*

*officinalis*, *Mentha* × *piperita*, *Morus nigra*, *Myrtus communis*, *Olea europaea*, *Origanum majorana*, *Panax ginseng*, *Papaver rhoeas*, *Parietaria officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Petroselinum crispum*, *Peumus boldus*, *Phaseolus vulgaris*, *Pimpinella anisum*, *Plantago lanceolata*, *Plantago ovata*, *Potentilla anserina*, *Quercus robur*, *Rhamnus frangula*, *Rheum palmatum*, *Rosa centifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Rubia tinctorum*, *Rubus idaeus*, *Salix alba*, *Salvia officinalis*, *Sambucus nigra*, *Satureja montana*, *Silybum marianum*, *Solanum dulcamara*, *Tabebuia impetiginosa*, *Tanacetum vulgare*, *Taraxacum officinalis*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*, *Tilia tomentosa*, *Tilia cordata*, *Trigonella foenum-graecum*, *Tussilago farfara*, *Vaccinium myrtillus*, *Valeriana officinalis*, *Verbascum thapsus*, *Verbena officinalis*, *Viscum album*, *Zea mays* и *Zingiber officinale*.

3. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит от трех до семи высушенных растений, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Desmodium adscendes*, *Eugenia caryophyllus* and *Eucalyptus globulus*, при этом по меньшей мере два из таких растения выбирают из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, и по меньшей мере одно из таких растений выбирают из *Vitis vinifera tinctoria*, *Desmodium adscendes* и *Eugenia caryophyllus*.

4. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит следующие высушенные растения: *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria* и *Arctostaphylos uva-ursi*.

5. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria* и *Arctostaphylos uva-ursi*.

6. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula*

*ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Eugenia caryophyllus* и *Arctostaphylos uva-ursi*.

7. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Eucalyptus globulus*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Mentha spicata* и *Rubia tinctorium*.

8. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит по меньшей мере четырнадцать или пятнадцать высушенных растений, выбранных из следующих шестнадцати: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Satureja montana*, *Valeriana officinalis*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Fucus vesiculosus*, *Foeniculum vulgare*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Arbutus unedo*, *Eugenia caryophyllus*, *Juniperus communis*, *Combretum micranthum*, *Lippia citrodora* и *Tanacetum vulgare*.

9. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Satureja montana*, *Valeriana officinalis*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Fucus vesiculosus*, *Foeniculum vulgare*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Arbutus unedo*, *Eugenia caryophyllus*, *Juniperus communis*, *Combretum micranthum* и *Lippia citrodora*.

10. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, в котором указанная растительная композиция содержит следующие высушенные растения: *Rheum palmatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Filipendula ulmaria*, *Satureja montana*, *Valeriana officinalis*, *Camellia sinensis*, *Vitis vinifera tinctoria*, *Fucus vesiculosus*, *Foeniculum vulgare*, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Arbutus unedo*, *Eugenia caryophyllus*, *Juniperus communis*, *Combretum micranthum*, *Lippia citrodora* и *Tanacetum vulgare*.

11. Лиофилизат экстракта по любому из пп. 1-10.

12. Биологически активная пищевая добавка, нутрицевтическая, фармацевтическая, ветеринарная или

косметическая композиция, или функциональный пищевой продукт, или пищевая добавка, содержащие экстракт по любому из пп. 1-10 или лиофилизат по п. 11 в качестве активного ингредиента вместе с по меньшей мере одним вспомогательным веществом.

13. Биологически активная пищевая добавка, нутрицевтическая, фармацевтическая, ветеринарная или косметическая композиция, или функциональный пищевой продукт, или пищевая добавка по п. 12, составленные для перорального или местного применения.

14. Экстракт по любому из пп. 1-10, лиофилизат по п. 11 или фармацевтическая, или ветеринарная композиция по п. 12 или п. 13 для применения в качестве антимикробного и/или антибиопленочного агента.

15. Экстракт по любому из пп. 1-10, лиофилизат по п.11 или фармацевтическая, или ветеринарная композиция по п. 12 или п. 13 для применения в качестве антимикробного и/или антибиопленочного средства при лечении, профилактике или диагностике микробных инфекций.

16. Экстракт, лиофилизат или фармацевтическая, или ветеринарная композиция по п. 15, отличающиеся тем, что инфекции вызваны *Escherichia*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Candida* или *Staphylococcus*.

17. Экстракт, лиофилизат или фармацевтическая или ветеринарная композиция по п. 15, отличающиеся тем, что инфекции вызваны *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* или *Staphylococcus pseudintermedius*.

18. Экстракт растительной композиции, которая содержит по меньшей мере два высушенных растения, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, лиофилизат указанного экстракта или фармацевтическая, или ветеринарная композиция, содержащие указанный экстракт, для применения в качестве антимикробного и/или антибиопленочного агента в лечении или профилактике микробных инфекций, вызванных *Escherichia*, *Klebsiella*, *Listeria*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Candida* или *Staphylococcus*.

19. Способ получения экстракта по любому из пп. 1-10,

включающий а) нарезание или измельчение отдельно или в смеси по меньшей мере двух отдельных высушенных растений с получением соответствующих растительных порошков; б) смешивание по меньшей мере двух различных растительных порошков для получения растительной композиции; с) добавление экстракционного растворителя к указанной растительной композиции для получения соответствующего жидкого препарата (или экстракта); d) инкубацию указанного жидкого препарата при комнатной температуре в течение периода времени от 5 до 15 минут; необязательно, е) нагревание указанного жидкого препарата при температуре в диапазоне от 60 °C до 134 °C в течение времени от 5 до 60 минут; необязательно f) центрифугирование, сбор супернатанта и фильтрацию собранного супернатанта; и, необязательно, g) концентрирование и/или сушку или сублимационную сушку жидкого препарата, полученного на этапе е) или f).

20. Способ по п. 19, в котором растворитель для экстракции представляет собой воду.

21. Способ по п. 20, в котором вода, добавленная на этапе (с), содержит растворенный в ней сахар в концентрации от 1 до 100 г/л, необязательно от 50 до 75 г/л.

22. Растительная композиция, содержащая по меньшей мере два высушенных растения, выбранных из *Filipendula ulmaria*, *Camellia sinensis* и *Arctostaphylos uva-ursi*, и по меньшей мере одно растение, выбранное из *Vitis vinifera var. tinctoria*, *Eugenia caryophyllus* и *Desmodium adscendens*, в качестве промежуточного продукта в способе получения экстракта по любому из пп. 1-10.

23. Растительная композиция по п. 22, дополнительно содержащая одно или более дополнительных высушенных растений, выбранных из *Achillea millefolium*, *Acorus calamus*, *Agrimonia eupatoria*, *Agropyrum repens*, *Agropyrum repens*, *Alchemilla vulgaris*, *Alkanna tinctoria*, *Althaea officinalis*, *Anethum graveolens*, *Angelica archangelica*, *Arbutus unedo*, *Arnica montana*, *Artemisia pontica*, *Artemisia vulgaris*, *Asparagus officinalis*, *Asparagus officinalis*, *Asperula odorata*, *Betula pendula*, *Borrago officinalis*, *Buxus sempervirens*, *Calamintha*

*officinalis*, *Calendula officinalis*, *Calluna vulgaris*, *Carum carvi*, *Cassia angustifolia*, *Centaurea cyanus*, *Centaureum erythraea*, *Centella asiatica*, *Cetraria islandica*, *Chamaemelum nobile*, *Chamomilla recutita*, *Chrysanthellum americanum*, *Cichorium endivia*, *Cichorium intybus*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Citrus aurantium*, *Combretum micranthum*, *Crataegus oxyacantha*, *Cuminum cyminum*, *Cupressus sempervirens*, *Curcuma zedoaria*, *Cynara scolymus*, *Cytisus scoparius*, *Desmodium adscendens*, *Elettaria cardamomum*, *Eleutherococcus senticosus*, *Epilobium parviflorum*, *Erysimum officinale*, *Eucalyptus globulus*, *Eugenia caryophyllus*, *Eupatorium cannabinum*, *Foeniculum vulgare*, *Fraxinus excelsior*, *Fucus vesiculosus*, *Fumaria officinalis*, *Galium odoratum*, *Gentiana lutea*, *Geranium robertianum*, *Ginkgo biloba*, *Glechoma hederacea*, *Glycyrrhiza glabra*, *Handroanthus impetiginosus*, *Harpagophytum procumbens*, *Hieracium pilosella*, *Humulus lupulus*, *Hypericum perforatum*, *Hyssopus officinalis*, *Illicium verum*, *Inula helenium*, *Juglans regia*, *Juniperus communis*, *Lamium album*, *Lavandula angustifolia*, *Levisticum officinale*, *Lippia citriodora*, *Lotus corniculatus*, *Lythrum salicaria*, *Malva sylvestris*, *Marrubium vulgare*, *Medicago sativa*, *Melissa officinalis*, *Mentha x piperita*, *Morus nigra*, *Myrtus communis*, *Olea europaea*, *Origanum majorana*, *Panax ginseng*, *Papaver rhoeas*, *Parietaria officinalis*, *Passiflora incarnata*, *Petroselinum crispum*, *Peumus boldus*, *Phaseolus vulgaris*, *Pimpinella anisum*, *Plantago lanceolata*, *Plantago ovata*, *Potentilla anserina*, *Quercus robur*, *Rhamnus frangula*, *Rheum palmatum*, *Rosa centifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Rubia tinctorum*, *Rubus idaeus*, *Salix alba*, *Salvia officinalis*, *Sambucus nigra*, *Satureja montana*, *Silybum marianum*, *Solanum dulcamara*, *Tabebuia impetiginosa*, *Tanacetum vulgare*, *Taraxacum officinalis*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*, *Tilia tomentosa*, *Tilia cordata*, *Trigonella foenum-graecum*, *Tussilago farfara*, *Vaccinium myrtillus*, *Valeriana officinalis*, *Verbascum thapsus*, *Verbena officinalis*, *Viscum album*, *Vitis vinifera* var. *tinctoria*, *Zea mays* u *Zingiber officinale*.

24. Способ приготовления биологически активной пищевой добавки, нутрицевтической, фармацевтической, ветеринарной или косметической композиции, или функционального пищевого продукта или пищевой добавки по п. 12 или п. 13, включающий смешивание экстракта по любому из пп. 1-10 или лиофилизата п. 11 по меньшей мере с одним вспомогательным веществом.

По доверенности