

УДК 615.322

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНОЙ
АКТИВНОСТИ НАСТОЕВ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
(*CALENDULA OFFICINALIS* L.) И РОМАШКИ АПТЕЧНОЙ
(*CHAMOMILLA RECUTITA* L.)**

А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, С. В. Райкова

*Саратовский государственный медицинский университет
имени В. И. Разумовского
Россия, 410012, Саратов, Б. Казачья, 112
E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru*

Поступила в редакцию 02.10.2017 г.

Сравнительный анализ антимикробной активности настоев календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) и ромашки аптечной (*Chamomilla recutita* L.). – Шереметьева А. С., Дурнова Н. А., Райкова С. В. – Приводятся данные об антимикробной активности настоев лекарственных растений календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) и ромашки аптечной (*Chamomilla recutita* L.). Качество сырья цветков календулы лекарственной (flores *Calendulae officinalis*) регламентируется Государственной Фармакопеей XIII ФС.2.5.0030.15 «Ноготков лекарственных цветки», цветков ромашки аптечной (flores *Chamomillae recutitae*) – ФС.2.5.0037.15 «Ромашки аптечной цветки». Лекарственное растительное сырье было получено из аптечной сети: цветки ноготков (flores *Calendulae*) фирмы ЗАО «Здоровье» и цветки ромашки (flores *Chamomillae*) фирмы ОАО «Красногорск-лекарства». Настои цветков календулы лекарственной и цветков ромашки аптечной готовили согласно методике Государственной фармакопее XIII ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары». Рабочие растворы делали из основного таким образом, чтобы получить ряд последовательных двукратных разведений (1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16). Антимикробная активность настоев исследовалась с использованием двух стандартных штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 29213: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. wood*) и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (*S. 209P*), а также клинических штаммов стафилококков: 3-х культур метициллинчувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA) (*S. aureus* 33, *S. aureus* 34, *S. aureus* 35) и 3-х культур метициллинрезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA) (*S. aureus* 36, *S. aureus* 37, *S. aureus* 38). В ходе исследования было установлено, что настой календулы обладает более сильной антимикробной активностью по сравнению с настоем ромашки.

В отношении стандартных культур *S. wood* и *S. 209P* МПК настоя календулы при разведении 1:8 и 1:4 соответственно сравнено с настоем ромашки 1:4 и 1:1 соответственно. В отношении клинических метициллиночувствительных штаммов *Staphylococcus aureus* (MSSA) *S. aureus* 33, *S. aureus* 34, *S. aureus* 35 МПК настоя календулы при разведениях 1:4, 1:4 и 1:8 соответственно по сравнению с настоем ромашки, который не проявил антимикробной активности в отношении *S. aureus* 33, но показал МПК при разведениях 1:1 и 1:1 при воздействии на штаммы *S. aureus* 34, *S. aureus* 35. В отношении всех метициллинорезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* (MRSA) настоя календулы лекарственной и ромашки аптечной не проявили антимикробной активности.

Ключевые слова: настой, календула лекарственная, ромашка аптечная, антимикробная активность, метициллиночувствительные штаммы стафилококков, метициллинорезистентные штаммы стафилококков.

Comparative analysis of antimicrobial activity of the infusion *Calendula officinalis* L. and *Chamomilla recutita* L. – Sheremetyeva A. S., Durnova N. A., Raykova S. V. – We cite the data about antimicrobial activity of infusions of medicinal plants: *Calendula officinalis* L. and *Chamomilla recutita* L. The quality of raw material of Flores *Calendulae officinalis* is regulated by State Pharmacopoeia XIII FA.2.5.0030.15 «Flowers of medical Marigold», and Flores *Chamomillae recutitae* FA.2.5.0037.15 «Flowers of pharmacy Chamomile». Medicinal vegetative raw material was obtained from the pharmacies: Flores *Calendulae*, CJSC «Health» and Flores *Chamomillae* JSC «Krasnogorskleksredstva». Infusions of flowers of medicinal *Calendulae* and flowers of pharmacy *Chamomillae* were prepared according to the method of the State Pharmacopoeia XIII CFA.1.4.1.0018.15 «Infusions and decoctions». Working solutions were made from the main ones so that we obtain the number of serial two-fold dilutions (1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16). Antimicrobial activity of the infusions was investigated by using two standard strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 29213: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. wood*) and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (*S. 209P*), and clinical strains of staphylococci: 3 crops of metitillinfeel *Staphylococcus aureus* (MSSA) (*S. aureus* 33, *S. aureus* 34, *S. aureus* 35) and 3 crops of metitillinrestance *Staphylococcus aureus* (MRSA) (*S. aureus* 36, *S. aureus* 37, *S. aureus* 38). The study found that infusions of *Calendulae* have stronger antimicrobial activity than infusions of *Chamomillae*. Minimal inhibitory concentration (MIC) of infusion of *Calendulae* at delution 1:8 beside infusion of *Chamomillae* 1:4 was ascertained to the standard cultures of *S. wood*. Minimal inhibitory concentration (MIC) of infusion of *Calendulae* at delution 1:4 beside infusion of *Chamomillae* 1:1 was ascertained to the standard cultures of *S. 209P*. Minimal inhibitory concentration (MIC) of infusion of *Calendulae* in dilutions 1:4, 1:4 and 1:8 was ascertained *S. aureus* 33, *S. aureus* 34, *S. aureus* 35 respectively. Minimal inhibitory concentration (MIC) of infusion of *Chamomillae* was ascertained in dilutions 1:1 and 1:1 under the influence of strains of *S. aureus* 34, *S. aureus* 35. In regard to *S. aureus* 33 infusion of *Chamomillae* didn't show antimicrobial activity. In regard to all the metitillinrestance of strains of *Staphylococcus aureus*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

(*MRSA*) infusions of medicinal *Calendulae* and pharmacy *Chamomillae* didn't show antimicrobial activity.

Key words: infusion, *Calendula officinalis* L., *Chamomilla recutita* L., antimicrobial activity, metitillinfeel strains of staphylococci, methicillinresistance strains of staphylococci.

DOI: 10.18500/1682-1637-2017-15-3-41-49

Многие применяемые лекарственные растения изучены как с точки зрения химического анализа (Шарова, Куркин, 2007; Алякин и др., 2010; Дурнова и др., 2014; Полуконова и др., 2015; Романтеева и др., 2015; Андреева и др., 2016; Шереметьева и др., 2017), так и с точки зрения биологической активности, например, установлена антимикробная активность, для таких широко используемых лекарственных растений, как шалфей лекарственный (*Salvia officinalis* L.) (Бубенчикова, 2010), одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* Wigg.) (Комарова и др., 2015), мята перечная (*Mentha piperita* L.) (Райкова и др., 2011), дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) (Кукіна и др., 2011) и др., но исследования в этой области продолжаются, что позволяет выявить новые аспекты фармакологического действия, например, противотуберкулезного (Скворцова и др., 2015; Полуконова и др., 2017).

Так как в настоящее время многие микроорганизмы приобретают резистентность к существующим лекарственным препаратам (Батурин и др., 2014; Дикке и др., 2016; Туркутюков, 2011), поиск терапевтически эффективных антимикробных средств не только синтетического, но и растительного происхождения, является актуальным. При этом даже известные на данный момент растительные средства, оказывающие антимикробное действие, остаются не изученными с точки зрения их возможного воздействия на клинические, в том числе и на антибиотикорезистентные штаммы микроорганизмов.

В качестве объекта исследования были выбраны: лекарственное растительное сырье календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) и ромашки аптечной (*Chamomilla recutita* L.), цветки которых издавна используются в практической медицине. Нормативным документом, регламентирующим качество сырья, является ГФ XIII: для цветков календулы лекарственной (*flores Calendulae officinalis*) – ФС.2.5.0030.15 «Ноготков лекарственных цветки», а для цветков ромашки аптечной (*flores Chamomillae recutitae*) – ФС.2.5.0037.15 «Ро-

машки аптечной цветки». Настои этих растений обладают широким спектром фармакологической активности (Путырский, Прохоров, 2008), но антимикробное действие настоев этих растений на резистентные микроорганизмы не изучено (Афанасьева и др., 2016; Пахомова и др., 2015).

Цель работы – изучение противостафилококковой активности настоев календулы лекарственной и ромашки аптечной.

Материал и методы

Для приготовления настоев использовали аптечное сырье цветков календулы лекарственной фирмы (*flores Calendulae officinalis*) ЗАО «Здоровье» и цветков ромашки аптечной фирмы (*flores Chamomillae recutitae*) ОАО «Красногорсклексредства». Настои готовили согласно методике ГФХIII ОФС.1.4.1.0018.15.

Антимикробная активность определялась в отношении стандартных культур микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. wood*) и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (*S. 209P*), а также в отношении клинических штаммов стафилококков (три метициллиночувствительных *S. aureus* (*MSSA*), три метициллинорезистентных *S. aureus* (*MRSA*)). Все штаммы взяты из музея живых культур кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии СГМУ.

Для детекции метициллинорезистентности применяли метод скрининга на плотной питательной среде Muller-Hinton с добавлением 4% NaCl и 6,0 мкг/мл оксацилина в соответствии с МУК 4.2.1890-04. Контролем служил посев испытуемых культур на агар Muller-Hinton с 4% NaCl без метициллиночувствительных и метициллинорезистентных стафилококков.

Определение МПК проводили в соответствии с МУК 4.2. 1890-04. Рабочие растворы готовили из основного с использованием жидкой питательной среды Muller-Hinton, таким образом, чтобы получить ряд последовательных двукратных разведений (1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16). Из суточных культур исследуемых штаммов готовили взвеси по стандарту мутности McFarland 1.0, доводя их до концентрации 2×10^6 КОЕ/мл. В каждую пробирку, содержащую определенную концентрацию изучаемого препарата, вносили по 0.1 мл такой бактериальной взвеси. Опыт сопровождался контрольным посевом бактериальной взвеси без

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

экспозиции настоев. Из контрольных пробирок до начала инкубации производили высев на плотные питательные среды, доводя предварительно взвесь бактерий до концентрации 2×10^2 КОЕ/мл. Опытные и контрольные посевы встряхивали и инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 24ч., после чего учитывали результаты опыта, отмечая последнюю пробирку с отчетливо выраженной задержкой роста. Количество вещества в этой пробирке расценивалось как минимальная подавляющая концентрация (МПК) для испытуемого штамма. Так как исходные рабочие растворы мутные, то для достоверности результатов эксперимента из предполагаемой пробирки с МПК настоя производили высев на плотные питательные среды, доводя предварительно взвесь бактерий до концентрации 2×10^2 КОЕ/мл.

Результаты и их обсуждение

Получены результаты воздействия настоев календулы лекарственной и ромашки аптечной в отношении двух стандартных штаммов *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (*S. wood* и *S. 209p*), а также клинических штаммов стафилококков: трех культур метициллиночувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA) и трех культур метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA) (табл. 1, табл. 2).

Таблица 1

Антимикробная активность настоя цветков *Calendulae officinalis*

Разведение	Тест-культура							
	<i>S. aureus</i>		<i>S. aureus</i> (MSSA)			<i>S. aureus</i> (MRSA)		
	<i>S. wood</i>	<i>S. 209P</i>	33	34	35	36	37	38
1:1	–	–	–	–	–	+	+	+
1:2	–	–	–	–	–	+	+	+
1:4	–	МПК	МПК	МПК	–	+	+	+
1:8	МПК	+	+	+	МПК	+	+	+
1:16	+	+	+	+	+	+	+	+

«+» – рост есть; «МПК» – минимальная подавляющая концентрация;

«–» – бактерицидное или бактериостатическое действие

Настой цветков календулы подавлял рост колоний стандартных штаммов стафилококков, оказывая более сильное воздействие на *S. wood*. Бактерицидное действие на *S. wood* установлено при разведениях 1:1, 1:2, 1:4, а на *S. 209P* при разведениях 1:1, 1:2.

Таблица 2

Антимикробная активность настоя цветков *Chamomillae recutitae*

Разведение	Тест-культура							
	<i>S. aureus</i>		<i>S. aureus</i> (MSSA)			<i>S. aureus</i> (MRSA)		
	<i>S. wood</i>	<i>S. 209P</i>	33	34	35	36	37	38
1:1	–	МПК	+	МПК	МПК	+	+	+
1:2	–	+	+	+	+	+	+	+
1:4	МПК	+	+	+	+	+	+	+
1:8	+	+	+	+	+	+	+	+
1:16	+	+	+	+	+	+	+	+

«+» – рост есть; «МПК» – минимальная подавляющая концентрация;

«–» – бактерицидное или бактериостатическое действие

Исследование влияния настоя календулы на клинические метициллиночувствительные штаммы *S. aureus* (MSSA) показало бактерицидное действие в отношении всех культур (*S. aureus* 33 и *S. aureus* 34 при разведениях 1:1, 1:2), но наибольшая активность установлена в отношении *S. aureus* 35 (при разведениях 1:1, 1:2, 1:4). В отношении клинических метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* (MRSA) антимикробная активность настоя календулы не установлена: наблюдали рост колоний во всех разведениях (см. табл. 1).

Настой цветков ромашки проявил антимикробную активность в отношении стандартных штаммов стафилококков, оказывая более сильное воздействие на *S. wood*. В отношении *S. wood* установлено бактерицидное действие настоя ромашки при разведениях 1:1, 1:2, а в отношении *S. 209P* – бактериостатическое при разведении 1:1.

Настой ромашки подавлял рост колоний *S. aureus* 34, *S. aureus* 35 клинических метициллиночувствительных штаммов *S. aureus* (MSSA). В отношении этих штаммов установлено бактериостатическое действие при разведении 1:1, а в отношении *S. aureus* 33 настоем ромашки не проявил антимикробную активность. Для клинических метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* (MRSA) антимикробная активность настоя ромашки не установлена: наблюдали рост колоний во всех разведениях (см. табл. 2).

По результатам эксперимента была установлена минимальная подавляющая концентрация настоев в отношении испытуемых штаммов стафилококков (табл. 3).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

Таблица 3

Значения МПК для настоев цветков *Calendulae officinalis*
и цветков *Chamomillae recutitae*

Тест-культура		МПК календулы лекарственной	МПК ромашки аптечной
<i>S. aureus</i>	<i>S. wood</i>	1:8	1:4
	<i>S. 209P</i>	1:4	1:1
<i>S. aureus MSSA</i>	33	1:4	–
	34	1:4	1:1
	35	1:8	1:1
<i>S. aureus MRSA</i>	36	–	–
	37	–	–
	38	–	–

«–» – МПК не установлена, т.к. рост стафилококков наблюдался во всех разведениях.

Настой цветков календулы показал более сильную антимикробную активность в отношении стандартных штаммов стафилококков по сравнению с настоем цветков ромашки. В отношении *S. wood* МПК настоя календулы наблюдалась в разведении 1:8, а у настоя ромашки – 1:4. При воздействии на *S. 209P* МПК настоя календулы установлена при разведении 1:4 по сравнению с настоем ромашки (1:1).

Исследование влияния настоев на клинические метициллиночувствительные штаммы *S. aureus* (*MSSA*) также показало более сильную антимикробную активность настоев календулы. Наибольшую активность настоев календулы проявил в отношении *S. aureus 35* (МПК наблюдалась в разведении 1:8), а при воздействии на культуры *S. aureus 34* и *S. aureus 35* настоев продемонстрировал одинаковый эффект (МПК в разведении 1:4). Настой ромашки проявил низкую антимикробную активность. При воздействии на штамм *S. aureus 34* и *S. aureus 35* зафиксирована МПК в разведении 1:1, а в отношении *S. aureus 33* настоев не оказал антимикробного действия.

Настой обоих растений в отношении метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* (*MRSA*) не проявили антимикробной активности.

Выводы

Оба исследуемых настоя проявили противостафилококковую активность, при этом настоев календулы лекарственной обладает более

выраженной противостафилококковой активностью, чем настой ромашки аптечной как в отношении стандартных, так и в отношении клинических метициллиночувствительных штаммов стафилококков.

Оба исследуемых настоя не обладают противостафилококковой активностью в отношении клинических метициллинорезистентных штаммов стафилококков.

Список литературы

Алякин А. А., Ефремов А. А., Качин С. В., Данилова О. О. Фракционный состав эфирного масла душицы обыкновенной Красноярского края // Химия растительного сырья. 2010. № 1. С. 99 – 104.

Андреева В. Ю., Исайкина Н. В., Цыбукова Т. Н., Петрова Е. В. Изучение элементного состава плодов калины обыкновенной и рябины обыкновенной различными современными методами // Химия растительного сырья. 2016. № 1. С. 177 – 180.

Афанасьева П. В., Куркина А. В., Куркин В. А., Лямин А. В., Жестков А. В. Определение антимикробной активности извлечений цветков календулы лекарственной // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4, № 2 (15). С. 60 – 70.

Батурин В. А., Щетинин Е. В., Батурина М. В., Афанасьев Н. Е., Байчорова А. Р., Мальцева В. С. Резистентность возбудителей респираторных инфекций и интенсивность потребления противомикробных средств в амбулаторной практике // Медицинский алфавит. 2014. Т. 2, № 11. С. 40 – 43.

Бубенчикова В. Н., Кондратова Ю. А. Изучение фармакологической активности шалфея блестящего // Кубанский научный медицинский вестник. 2010. № 7 (121). С. 38 – 40.

Дикке Г. Б., Семятов С. М., Союнов М. А. Профилактика инфекционных осложнений в эпоху антибиотикорезистентности // Доктор.Ру. 2016. № 8 – 9 (125 – 126). С. 26 – 31.

Дурнова Н. А., Романтеева Ю. В., Ковтун А. Н. Химический состав эфирного масла *Thymus marshallianus* Willd. и *Thymus pallasiianus* Н. Вг., произрастающих на территории Саратовской области // Химия растительного сырья. 2014. №2. С. 115 – 119.

Комарова Е. Э., Пластун В. О., Райкова С. В., Дурнова Н. А. Изучение антимикробной активности водного раствора спиртового экстракта травы одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.) // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2015. №13. С. 68 – 74.

Кукіна В. М., Осолодченко Т. П., Дмитрієвський Д. І. Дослідження антимікробної властивості густого екстракту листя дуба черешчатого // Вісник фармації. 2011. № 1. С. 20 – 22.

МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания».

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ

Пахомова Е. Е., Пахомова А. Е., Пахомова Ю. В., Карабинцева Н. О., Овсянко Е. В. Оценка ранозаживляющего, антимикробного, противовоспалительного эффектов эфирных масел // Медицина и образование в Сибири. 2015. № 6. С. 70.

Полуконова Н. В., Наволокин Н. А., Маслякова Г. Н., Бучарская А. Б., Панкратова Л. Э., Манаенкова Е. В., Курчатова М. Н., Скворцова В. В., Дурнова Н. А. Активность экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) в отношении *M. tuberculosis* // Бюллетень медицинских интернет конференций. 2017. Т. 7, № 2. С. 581 – 584.

Полуконова Н. В., Наволокин Н. А., Райкова С. В., Маслякова Г. Н., Бучарская А. Б., Дурнова Н. А., Шуб Г. М. Противовоспалительная, жаропонижающая и антимикробная активность флаваноидсодержащего экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78, № 1. С. 34 – 38.

Путырский И. Н., Прохоров В. Н. Лекарственные растения. 2-е изд., стереотип. Мн.: Книжный дом, 2008. 704 с.

Райкова С. В., Голиков А. Г., Шуб Г. М., Дурнова Н. А., Шаповал О. Г., Рахметова А. Ю. Антимикробная активность эфирного масла мяты перечной (*Mentha piperita* L.) // Саратов. науч.-мед. журн. 2011. Т. 7, № 4. С. 787 – 790.

Романтеева Ю. В., Дурнова Н. А., Зараева Н. В. Фитохимический анализ травы лапчатки серебристой (*Potentilla argentea*), произрастающей в пос. Чардым Саратовской области // Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы: матер. II Междунар. науч. конф. Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос. аграр. ун-та. 2015. С. 120 – 122.

Скворцова В. В., Наволокин Н. А., Полуконова Н. В., Манаенкова Е. В., Панкратова Л. Э., Курчатова М. А., Маслякова Г. Н., Дурнова Н. А. Противотуберкулезная активность экстракта бессмертника песчаного (*Helichrysum arenarium*) *in vitro* // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. Т. 78, № 2. С. 30 – 33.

Туркутюков В. Б. Молекулярно-генетический мониторинг резистентности микроорганизмов к антибиотикам // Тихоокеанский медицинский журнал. 2011. № 2. С. 28 – 31.

Шарова О. В., Куркин В. А. Флавоноиды цветков календулы лекарственной // Химия растительного сырья. 2007. № 1. С. 65 – 68.

Шереметьева А. С., Дурнова Н. А., Березуцкий М. А. Содержание эфирных масел в траве разных видов рода Тимьян (*Thymus* L.) // Бюл. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. 2017. Т. 15, № 2. С. 15 – 19.