

1. Коронавирус COVID–19: Официальная информация о коронавирусе в России на портале – стопкоронавирус.рф [Электронный ресурс]. URL: <https://стопкоронавирус.рф> (дата обращения: 19.03.2021).
2. Alene M. [et al.]. Serial interval and incubation period of COVID-19: a systematic review and meta-analysis / Alene M. et al. // BMC Infectious Diseases. – 2021. – Т. 21. – №. 1. – С. 1-9.
3. Cori A. A New Framework and Software to Estimate Time-Varying Reproduction Numbers During Epidemics / Cori A. et al. // American journal of epidemiology. – 2013. – Т. 178. – №. 9. – С. 1505-1512.
4. Gostic K. M. Practical considerations for measuring the effective reproductive number,  $R_t$  / Gostic K. M. et al. // PLoS computational biology. – 2020. – Т. 16. – №. 12. – С. e1008409.
5. Nishiura H. Serial interval of novel coronavirus (COVID-19) infections / Nishiura H., Linton N. M., Akhmetzhanov A. R. // International journal of infectious diseases. – 2020. – Т. 93. – С. 284-286.
6. Nouvellet P. A simple approach to measure transmissibility and forecast incidence / Nouvellet P. et al. // Epidemics. – 2018. – Т. 22. – С. 29-35.

УДК 615.33:582.998.2

**Юсупов Р.М., Бабина Н.А., Гажеева Т.П., Закамская Е.С.  
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНО-  
ЭТАНОЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА  
ОБЫКНОВЕННОГО (*ACHILLEA MILLEFOLIUM L.*) И КАЛЕНДУЛЫ  
ЛЕКАРСТВЕННОЙ (*CALENDULA OFFICINALIS L.*) В ОТНОШЕНИИ  
СТАФИЛОКОККА**

Кафедра биохимии, клеточной биологии и микробиологии, кафедра  
экологии

Марийский государственный университет  
Йошкар-Ола, Российская федерация

**Yusupov R. M., Babina N. A., Gazheev T. P., Zakamskayua E. S.  
RESEARCH OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF WATER-  
ETHANOL EXTRACTS OF YARROW (*ACHILLEA MILLEFOLIUM L.*)  
AND CALENDULA OFFICINALIS (*CALENDULA OFFICINALIS L.*)  
AGAINST STAPHYLOCOCCUS**

Cathedra of biochemistry, cell biology and microbiology, cathedra of ecology  
Mari state university

Yoshkar-Ola, Russian Federation  
E-mail: [renat.yusupov.99@mail.ru](mailto:renat.yusupov.99@mail.ru)

**Аннотация.** В настоящей работе представлено исследование бактерицидных свойств в отношении музейного штамма *St. aureus 209 p* водно-этанольных экстрактов тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium L.*)

и календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.). Стандартизацию растительного сырья по флавоноидам проводили в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XIV издания. В результате исследования было выявлено, что *St. aureus* чувствителен к экстрактам данных растений, причём водно-этанольное извлечение из травы тысячелистника обладает более сильным бактерицидным действием, чем из цветков календулы.

**Annotation.** This paper presents a study of the bactericidal of water-ethanol extracts of the yarrow (*Achillea millefolii* L.) and calendula officinalis (*Calendulae officinalis* L.) properties of the museum strain *St. aureus* 209 p. Standardization of plant raw materials for flavonoids was carried out in accordance with the State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIV edition. As a result of the research, it turned out that *St. aureus* is sensitive to extracts of these plants, and water-ethanol extraction of yarrow grass has a stronger bactericidal effect than calendula flowers.

**Ключевые слова:** экстракт, *Staphylococcus aureus*, тысячелистник обыкновенный, календула лекарственная, антибиотики.

**Keywords:** extract, *Staphylococcus aureus*, yarrow, calendula officinalis, antibiotics.

## Введение

В связи с растущей обеспокоенностью у специалистов и населения негативным воздействием антибиотиков на здоровье человека возникает спрос на новые противомикробные препараты. Особая проблема связана со штаммами поли-резистентных микроорганизмов таких как *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium difficile* и др [3,8]. Лечение заболеваний, вызванных этими бактериями, требует введения в организм высоких доз лекарственных препаратов, чтобы минимизировать риск возникновения устойчивости к лекарству. Однако все антибиотики являются токсическими соединениями, и их применение часто сопровождается такими побочными эффектами как нарушение слуха, повышение печёночных трансаминаз, нарушение нервно-мышечной передачи, нефротоксичность, дерматиты. Галеновые препараты многих растений обладают бактерицидным действием и могут выступать в качестве эффективной альтернативы антибиотиков, из побочных эффектов имея, в основном, только аллергические реакции [3].

**Цель исследования** - сравнить бактерицидные свойства водно-этанольных экстрактов *Achillea millefolium* (L.) и *Calendulae officinalis* (L.) в отношении *Staphylococcus aureus*.

## Материалы и методы исследования

Материалом для исследования являлось лекарственное растительное сырьё Тысячелистника обыкновенного трава (*Achilleae millefolii herba*) и Календулы лекарственной цветки (*Calendulae officinalis flores*). Сырьё тысячелистника представляло собой цветоносные побеги длиной до 15 см, собранные в июле 2020 года на ежево-разнотравном лугу и высушенные до воздушно-сухого состояния. Сырьё календулы представляло собой корзинки растений, выращенных в культуре, собранные в июле-августе 2020 года и высушенные до воздушно-сухого состояния. Определение суммы флавоноидов в пересчёте на лютеолин (для тысячелистника) и на рутин (для календулы) проводили методом дифференциальной спектрофотометрии по реакции комплексообразования с 2% спиртовым раствором алюминия хлорида [5,6].

Расчёты проводили по формуле:

$$X = \frac{A * 25 * 50 * 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} * a * 1 * (100 - W)}$$

Где: А – оптическая плотность исследуемого раствора

а – навеска сырья, г

Таблица 1.

Значения удельного показателя и влажности, необходимые для расчётов количества содержания флавоноидов

Сырьё	Пересчёт на флавоноид	Удельный показатель поглощения комплекса флавоноида алюминием хлорида $A_{1\text{см}}^{1\%}$	Влажность $W$ (%)
Трава тысячелистника обыкновенного	Лютеолин	549,4 при длине волны 400 нм	6,7%
Цветки календулы лекарственной	Рутин	248 при длине волны 408 нм	4,0%

Водно-этанольной экстракт получали методом мацерации в темном месте при комнатной температуре в течение 14 суток. В качестве экстрагента использовали 50% раствор этанола. Полученный экстракт фильтровали, затем фильтрат центрифугировали для очистки от мелкой взвеси в течение 5 минут при 3000 об./мин.

В работе использовали музейный штамм золотистого стафилококка *St. aureus 209P*. В предварительных опытах изучили его патогенные свойства, определили устойчивость, взятого в опыт микроба к антибиотикам, используя диско-диффузионный метод.

Исследование бактерицидных свойств водно-этанольных экстрактов тысячелистника проводили методом серийных разведений в мясопептонном бульоне (МПБ) с последующим пересевом на мясопептонный агар (МПА) (с авторской модификацией: для культивирования микробов использовался солевой бульон и солевой агар; объём бульона – 5 мл). Для того, чтобы учесть влияние спирта, содержащегося в экстракте, на развитие культуры, параллельно проводили эксперимент с раствором спирта этилового 50%.

Для проведения исследования экстракты и раствор спирта предварительно разбавили в 9 раз.

Об эффективности исследуемого экстракта судили по коэффициенту, равному десятичному логарифму числа КОЕ/мл, подсчёт которых проводили согласно методике [4]. Статистическая обработка данных проводилась в

программе STATISTICA\_8. Низкие показатели дисперсии по выборке (0,00073-0,00638) говорят об однородности выборки в значительной степени для каждого эксперимента.

### Результаты исследования и их обсуждение

В результате спектрофотометрического анализа лекарственного растительного сырья установлено, что сумма флавоноидов в пересчёте на лютеолин в траве тысячелистника составляет 1,38%, в цветках календулы в пересчёте на рутин - 1,59%.

В результате исследования патогенных свойств и устойчивости к антибиотикам выяснилось, что используемый штамм *Staphylococcus aureus* 209 р образует золотистый пигмент на желточно-солевом агаре ЖСА, лецитиназа-положителен, коагулаза-положителен, устойчив к бензилпенициллину, неустойчив к эритромицину и ципрофлоксацину, промежуточно устойчив к левофлоксацину.

Результаты исследования бактерицидных свойств в отношении *Staphylococcus aureus* водно-этанольных экстрактов приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Антимикробная активность водно-этанольных экстрактов травы тысячелистника и цветков календулы

№ разведения	Оценка роста (десятичный логарифм значения КОЕ/мл)		
	Экстракт тысячелистника	Экстракт календулы	Контроль
1	0	0	3,7
2	0	0	
3	0	2,5	
4	3,3	3,5	
5	3,5	3,5	

К видно по таблице, экстракт тысячелистника обладает более сильными бактерицидными свойствами по сравнению с экстрактом календулы.

В эксперименте использовались спиртовые экстракты растений. При серийном разведении в бульоне растворов экстрактов (1:9) концентрация спирта в каждой последующей экспериментальной пробирке составила: 2,7%; 1,38%; 0,69%; 0,35%, 0,175%. Отсутствие влияния соответствующих концентраций

спирта на рост *St. aureus* доказали в параллельном эксперименте: во всех случаях отмечался множественный рост.

Не могут не вызывать интереса отличающиеся друг от друга результаты. В более ранних исследованиях было установлено, что *Staphylococcus aureus* устойчив к действию экстракта тысячелистника обыкновенного [1, 5]. В нашем исследовании мы выяснили, что водно-этанольное извлечение из надземной части *Achillea millefolium L.* обладает бактерицидными свойствами в отношении *St. aureus*, при этом они сохраняются при разбавлении экстракта в 72 раза.

Данные о бактерицидности извлечений календулы лекарственной более однородны. Результаты ряда исследований подтверждают, что *Staphylococcus aureus* чувствителен как к водным, так и к водно-этанольным экстрактам цветков данного растения [2, 8]. В результате наших исследований мы выяснили, что извлечение из корзинок календулы лекарственной, получаемое методом мацерации сырья в 50% этаноле, обладает бактерицидными свойствами по отношению к *St. aureus*, при этом они сохраняются при разбавлении в 36 раз. Стоит отметить, что экстракт, приготовленный на 70% спирте, согласно данным исследования П.В. Афанасьева и др., теряет свои бактерицидные свойства при разведении в 32 раза [2].

#### **Выводы:**

1. Водно-этанольные экстракты тысячелистника обыкновенного и календулы лекарственной обладают бактерицидными свойствами по отношению к *Staphylococcus aureus*.

2. У экстракта тысячелистника бактерицидные свойства более выражены и сохраняются до разбавления в 72 раза.

3. Экстракт календулы лекарственной теряет свои бактерицидные свойства при разбавлении более, чем в 36 раз.

#### **Список литературы:**

1. Афанасьева И.В. Определение антимикробной активности извлечений цветков календулы лекарственной / И. В. Афанасьева, А. В. Куркина, В. А. Куркин, А. В. Лямин, А. В. Жестков // Фармация и фармакология. – 2016. – Т.4. - №2. – 66-68 с.

2. Базарнова Ю. Г. Исследование состава биологически активных веществ экстрактов дикорастущих растений / Ю. Г. Базарнова, О. Б. Иванченко // Биологически активные вещества в пищевых продуктах. Вопросы питания. – 2016. - Т.85. - №5. – 103-105 с.

3. Пашкова Т. М. Экспериментально-клиническое обоснование использования лекарственных растений для лечения и профилактики эндогенных инфекций: Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал) №2 / Пашков Т. М. – Оренбург: 2016. – 1-9 с.

4. Практикум по основам иммунологии: учеб. пособие / под ред. А. В. Смирнов, М. В. Кроткова, Т. П. Гажеева, Е. В. Бурмисова, И. П. Зелди.

5. Федько И.В. Скрининговое исследование антимикробной активности некоторых растений из флоры Сибири / И. В. Федько, Р. Р. Китапова, Л. С. Муштоватова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – Т.11. - №5 (65). – 118-119 с.

6. ФС. 2.5.0101.18 Тысячелистника обыкновенного трава (*Achilleae millefolii herba*) // Государственная фармакопея Российской Федерации, издание XIV, том IV. – М., 2018 – 6512-6513 с.

7. ФС. 2.5.0030.15 Календулы лекарственной цветки (*Achilleae millefolii herba*) // Государственная фармакопея Российской Федерации, издание XIV, том IV. – М., 2018 – 6512-6513 с.

8. Шереметьева А. С. Сравнительный анализ антимикробной активности настоек календулы лекарственной (*Calendula officinalis L.*) и ромашки аптечной (*Chamomilla recutita L.*) / А. С. Шереметьева, Н. А. Дурнова, С. В. Райкова // Бол. Бот. сада Саратов. гос. ун-та. – 2017. – Т.4. – вып.3. – 44-47 с.