

УДК 615.451.16.012.014

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ  
ЦВЕТКОВ КАЛЕНДУЛЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ****П.В. Афанасьева, А.В. Куркина, В.А. Куркин, А.В. Лямин, А.В. Жестков***Самарский государственный медицинский университет, г. Самара***DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS  
OF CALENDULA OFFICINALIS FLOWERS****P.V. Afanasyeva, A.V. Kurkina, V.A. Kurkin, A.V. Lyamin, A.V. Zhestkov***Samara State Medical University, Samara**E-mail: appolinarija03@mail.ru*

Календула лекарственная (*Calendula officinalis* L.) является одним из наиболее популярных официальных растений в Российской Федерации и в зарубежных странах. Широкий спектр применения данного растения обуславливают каротиноиды, флавоноиды и сапонины, внося вклад в суммарное терапевтическое действие сырья, и фитопрепаратов ноготков.

В настоящей работе обсуждаются результаты сравнительного исследования антимикробной активности водного и спирто-водных извлечений из цветков ноготков. Определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) проводили с помощью метода двойных серийных разведений в бульоне. В качестве тестовых культур использовали следующие микроорганизмы: *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Исследование показало, что наиболее широким спектром антибактериальной активности обладает настой цветков ноготков. В отношении *Pseudomonas aeruginosa* наиболее активным препаратом является настойка (1:10) на 70% спирте, в отношении *Escherichia coli* единственным препаратом, проявившим антимикробную активность, является настой цветков календулы, в отношении *Bacillus cereus* наибольшую активность проявили настойка цветков ноготков (1:5) на 70% спирте и жидкий экстракт

Pot marigold (*Calendula officinalis* L.) is one of the most popular medicinal plants in the Russian Federation and abroad. The wide range of pharmacological activity of this medicinal plant is determined by carotenoids, flavonoids, saponins. These biologically active substances give total therapeutic effect of flowers of *Calendula officinalis* and medicines on base of pot marigold.

This paper discusses the results of comparative investigations for a determination of antimicrobial activity of aqueous and aqueous-alcoholic extracts from pot marigold flowers. Detection of the minimum inhibitory concentration (MIC) was carried out by using the method of double serial dilutions in broth. The following microorganisms were used as test cultures: *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The study showed that the widest spectrum of antibacterial activity has water extract of pot marigold flowers. As for *Pseudomonas aeruginosa* the most active medicine is tincture (1:10) with 70% alcohol. As for *Escherichia coli* the only phytopharmaceutical – water extract of marigold flowers, reveals antimicrobial activity. Against *Bacillus cereus* the most effective properties was indicated for tincture (1:5) with 70% ethanol and the liquid

(1:2) на 70% спирте, в отношении *Candida albicans* наибольшую активность проявила настойка (1:10) на 70% спирте.

**Ключевые слова:** календула лекарственная, *Calendula officinalis* L., цветки, настой, настойка, жидкий экстракт, антимикробная активность.

**Введение.** Известно, что флавоноиды играют ведущую роль в формировании важнейших фармакотерапевтических эффектов лекарственных растений: антимикробного, диуретического, противовоспалительного, противовирусного, желчегонного, спазмолитического и др. [1, 2]. Благодаря наличию в календуле лекарственной (ноготки) (*Calendula officinalis* L.) флавоноидов как важнейшей группы действующих веществ, сырье данного растения официально применяется как антисептическое и противовоспалительное средство [2, 3]. Для широко известных фитопрепаратов на основе календулы лекарственной («Фитогепатол», «Грудной сбор № 4», «Калефлон», «Фитонепрол», «Ротокан», мазь «Календула», свечи «Календула», «Настойка календула») отмечается терапевтическая эффективность и относительная безопасность.

Именно по этой причине, на наш взгляд, **в настоящее время** наблюдается новый виток активности исследований по изучению антимикробных свойств календулы лекарственной [4–9].

Многочисленные современные публикации зарубежных авторов свидетельствуют об антимикробных свойствах растения образцов календулы лекарственной, произрастающих в Бразилии, Пакистане, Индии, Ираке [4–9].

Обнаружено, что водное извлечение календулы проявляет выраженную антибактериальную активность против таких энтеропатогенных бактерий, как *Salmonella*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* и *Escherichia coli*, особенно в концентрации 100 мкг/мл [7]. Указанные возбудители были взяты в концентрациях 25 мкг/мл, 50 мкг/мл и 100 мкг/мл. Объектом сравнения (контролем) являлся антибиотик «Цефотан» в дозе 10 мкг/

extract (1:2) with 70% alcohol. In case of *Candida albicans*, tincture (1:10) with 70% alcohol exhibited the highest activity.

**Keywords:** pot marigold, *Calendula officinalis* L., flowers, infusion, tincture, liquid extract, antimicrobial activity.

**Introduction.** Flavonoids are well known to have a significance in the forming the most important pharmacological effects of medicinal plants: antimicrobial, diuretic, anti-inflammatory, antiviral, choleric, spasmolytic activities [1, 2]. Due to the contents of flavonoids in pot marigold flowers (*Calendula officinalis* L.) as a leading group of biologically active compounds (BAC), the herbal materials of this plant officially used as an antiseptic, anti-inflammatory medicines [2, 3]. For well-known phytopreparations on the basis of pot marigold («Phytohepatol», «Pectoral tea no. 4», «Calephlonum», «Phytonephrol», «Rotocanum», ointment «Calendula», suppositories «Calendula», «Calendula tincture») the therapeutic activity and relative safety are marked.

For that very reason, in our opinion, at present there is a new stage of the research on the investigation of pot marigold antimicrobial activity [4–9].

A lot of modern publications describe that foreign scientists were studied antimicrobial properties of plant samples of herbal materials growing in Brazil, Pakistan, India and Iraq [4–9].

It has been found that water pot marigold extract exhibits expressed antibacterial activity against enteropathogenic bacteria such as *Salmonella*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* and *Escherichia coli*, particularly at a concentration of 100 мкг/мл [7]. These pathogens were studied at the concentrations of 25 мкг/мл, 50 мкг/мл and 100 мкг/мл. The object of comparison (standard) was an antibiotic “Tsefotan” at a concentration of 10 мкг/мл. It is

мл. Важно указать, что *Shigella sonnei* была наиболее чувствительна во всех изучаемых концентрациях, проявив максимально высокую зону задержки роста (23 мм) в концентрации 100 мкг/мл на фоне «Цефотана» (зона задержки роста 16 мм), взятого в значении 10 мкг/мл. Концентрация 25 мкг/мл выявила менее выраженную активность против всех бактериальных изолятов, исключая *Shigella sonnei*, которая даже в указанном количестве показала зону задержки роста в 20 мм. Интересно, что антимикробная активность для всех возбудителей в концентрации 50 мкг/мл также оказалась сопоставимой к таковым эффектам антибиотика «Цефотана». Значения зоны задержки роста в концентрации 50 мкг/мл для *Salmonella*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* и *Escherichia coli* составили 10 мм, 13 мм, 15 мм, 21 мм, 15 мм соответственно на фоне контрольного антибиотика в дозе 10 мкг/мл (9 мм, 17 мм, 22 мм, 16 мм, 18 мм соответственно) [7]. В этой связи, можно рекомендовать препараты календулы при лечении кишечных инфекций данной этиологии.

Изучение водного, ацетонового и метанольного извлечений свежих цветков ноготков в отношении пяти бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* и *Pseudomonas aeruginosa* показали достаточно высокую антибактериальную активность в результате торможения зоны роста в чашках с посевным материалом [4].

Важно отметить, что некоторыми исследователями была показана перспективность комплексного применения растения. Так, на антимикробную активность исследованы метанольные и водные извлечения листьев, корней, цветков и стеблей календулы. Наилучшие результаты были обнаружены в отношении *Escherichia coli* и *Salmonella typhi* для метанольного извлечения корней ноготков. В плане мультирезистентных микроорганизмов эффективнее себя проявила композиция извлечений, полученных из различных органов растения [9]. Некоторые ученые указывают на высокую антимикробную активность стеблей календулы лекарственной [8].

important to point out that *Shigella sonnei* was the most sensitive in all investigated concentrations, marked the highest growth inhibition zone (23 mm) at the concentration of 100 µg/ml in the comparison with “Tsefotan” (growth inhibition zone 16 mm), taken at value of 10 µg/ml. The concentration of 25 µg/ml revealed less represented activity against all the bacterial isolates, except for *Shigella sonnei*. It is interesting that *Shigella sonnei* even in this value showed a growth inhibition zone of 20 mm. It is interesting, that the antimicrobial activity for all agents in a concentration of 50 µg/ml was also comparable to that of the effect of the study drug. Values of growth inhibition zone in a concentration of 50 µg/ml for *Salmonella*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* and *Escherichia coli* were 10 mm, 13 mm, 15 mm, 21 mm, 15 mm, in comparison to the antibiotic in a dose of 10 µg/ml (9 mm, 17 mm, 22 mm, 16 mm and 18 mm, respectively) [7]. In connection with it is possible to recommend phytopharmaceuticals on basis of pot marigold in the treatment of intestinal infections this etiology.

The investigation of water, acetone and methanol extracts of fresh *Calendula* flowers against five bacteria: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* and *Pseudomonas aeruginosa* showed rather high antibacterial activity in the result of growth zone inhibition in the plate with agar inoculum [4].

Some researchers proved the importance of multipurpose using of *Calendula officinalis*. Thus, the antimicrobial activity of methanol and water extracts of leaves, roots, flowers and stems of *Calendula* was investigated.

The best results were found out against *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* for the methanol extract of pot marigold roots. In terms of multiresistant microorganisms the most effective substance was the composition of extracts obtained from different plant organs [9]. Some scientists indicate the high antimicrobial activity of *Calendula* stems [8].

Кроме того, была обнаружена антигрибковая активность метанольных и водных извлечений листьев, корней, цветков и стеблей календулы в отношении *Aspergillus niger*, *Candida albicans* [9].

Другие исследователи установили преимущество метанольного экстракта из цветков календулы по сравнению с извлечением этиловым спиртом в плане антимикробной активности на группу микроорганизмов, выделенных у пациентов [5]. Однако при этом была выявлена равноценная активность обоих извлечений по отношению к грибам рода *Candida* и рода *Aspergillus*, сопоставимая с таковой препарата «Флуконазол» [9].

Бразильские ученые указывают на перспективность гомеопатических препаратов на основе календулы с точки зрения проявления антимикробной активности [6]. Была проанализирована настойка календулы промышленного производства (Бразилия, аптека готовых лекарственных форм). Разведение настойки проводилось от значения 1:1 (исходная форма) через концентрации 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 к значению 1:64 в 70% этиловом спирте, на основе которого создан данный препарат. Данный подход был использован с целью оценки возможного положительного влияния спирта на антибактериальную активность настойки. Известно, что 70% этиловый спирт традиционно применяется для получения фитопрепаратов в форме настойки. Для теста были использованы несколько бактериальных штаммов. Хлоргексидин был использован как положительный контроль, а вода очищенная как отрицательный контроль. Антибактериальная активность настойки календулы обнаружена при максимальном разведении в отношении *Streptococcus oralis* 1:16 (зона задержки роста 6,5 мм), в отношении *Streptococcus mutans* и *Streptococcus salivarius* 1:32 (зона задержки роста 7,0 и 7,5 мм соответственно), в отношении *Enterococcus faecalis* и *Eikenella corrodens* 1:64 (зона задержки роста 6,0 и 6,5 мм соответственно). При этом спирт этиловый 70% не выявил какую-либо антибактериальную активность против исследуемых бактериальных штаммов [6].

Таким образом, многочисленные данные

Besides, antifungal activity in methanol and water extracts of leaves, roots, stems and flowers of pot marigold against *Aspergillus niger*, *Candida albicans* was found [9].

Other researchers have found the advantage of methanolic extract of Calendula flowers in comparison with ethanol extract in terms of antimicrobial activity on a group of microorganisms isolated from patients [5].

However, the equivalent activity of both extracts against fungi of the genus *Candida* and genus *Aspergillus* was found, comparable to the «Fluconazole» [9].

Brazilian scientists described advance researches of homeopathic preparations based on pot marigold in terms of revealing of antimicrobial activity [6]. Calendula tincture of industrial production has been analyzed (Brazil, pharmacy dosage forms). The dilution of tincture was conducted from the value 1:1 (original form) through a concentration of 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 to 1:64 to the value of 70% ethanol, which was created on the base of this medicine. This approach was used in order to evaluate a possible influence of ethanol on the antibacterial activity of tincture. It is known, that 70% ethanol is routinely used in the preparation of phytotherapeutic tinctures. Several bacterial strains were used for the test. Chlorhexidine was used as a positive control, and the purified water as a negative control. Antibacterial activity of Calendula tincture is detected at the maximum dilution against *Streptococcus oralis* 1:16 (6.5 mm growth inhibition zone) against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus salivarius* 1:32 (growth inhibition zone of 7.0 and 7.5 mm, respectively) against *Enterococcus faecalis* and *Eikenella corrodens* 1:64 (growth inhibition zone of 6.0 mm and 6.5 respectively). In this case 70% ethanol did not show any antibacterial activity against studied bacterial strains [6].

Consequently, literature data indicate the importance of studying of antimicrobial charac-

литературы свидетельствуют о перспективности изучения антимикробных свойств растения в плане дальнейшего расширения возможностей применения календулы лекарственной.

**Целью исследования** являлось скрининговое изучение антибактериальной активности извлечений цветков календулы лекарственной.

**Материалы (объекты) и методы.** Объектами исследования являлись извлечения календулы лекарственной: водное извлечение (настой) цветков календулы (1:20); настойка цветков календулы (1:5) (70% спирт) (разработка кафедры фармакогнозии СамГМУ); настойка цветков календулы (1:10) на 70% спирте (ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», препарат «Календулы настойка», серия 91214 годен до 1217); жидкий экстракт цветков календулы (1:2) на 40% спирте; жидкий экстракт цветков календулы (1:2) на 70% спирте. Сырьем во всех случаях являлся воздушно-сухой образец цветков календулы высокопродуктивного сорта «Кальта», промышленно культивируемого в Самарской области (ЗАО «Самаралектравы»).

В качестве тестовых культур для определения антимикробной активности водных и спиртовых извлечений нами были использованы следующие микроорганизмы: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*.

Определение минимальной ингибирующей концентрации проводили методом двойных серийных разведений в бульоне в соответствии с МУК 4.2.1890-04 [10].

Питательную среду готовили из сухой среды промышленного производства в соответствии с инструкцией изготовителя.

Для приготовления инокулюма из бульонной культуры отбирали несколько однотипных изолированных колоний, петлей переносили незначительное количество материала в пробирку с 4,0-5,0 мл жидкой неселективной среды. Затем ее доводили до оптической плотности 0,5 единиц по МакФарланду путем добавления стерильного бульона или изотонического раствора натрия хлорида.

Для проведения исследования использо-

вали характеристики of the pot marigold in terms of further new opportunities of Calendula pharmacological application.

**The aim of the investigation** was a screening study of the antibacterial activity of the Calendula flowers extracts.

**The objects and methods.** The objects of the study were calendula extracts: water extract (infusion) of Calendula flowers (1:20); tincture of Calendula flowers (1:5) (70% ethanol) (elaboration of pharmacognosy department SamS-MU), tincture of Calendula flowers (1:10) (70% ethanol) ООО «Tula pharmaceutical factory» drug «Calendula tincture», series 91214, useful time 1217; liquid extract of Calendula flowers (1:2) 40% ethanol; liquid extract of Calendula flowers (1:2) 70% ethanol. In all cases herbal materials was air-dried sample of Calendula flowers highly productive variety «Kalta», industrial cultivated in the Samara region (organization «Samaralektravy»).

*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans* were used as test cultures for the determining of the antimicrobial activity of the water and Calendula ethanol extracts.

Determination of the minimum inhibitory concentration was determined by double serial dilutions in broth according to MUK 4.2.1890-04 [10].

Culture media was prepared from the dry medium industrially manufactured according to the specification of manufacturer.

Several isolated colonies were selected to prepare inoculum from the broth culture. Then the minor amount of material was transferred by loop to a tube with 4.0-5.0 ml of non-selective liquid broth. After that it was adjusted to optical density 0.5 McFarland units by adding sterile broth or isotonic sodium chloride solution.

Micromethod was used for the study. Testing was conducted on the final volume 0.2 ml. 96-cavity sterile plate for immunological

вали микрометод, тестирование проводили при величине конечного объема 0,2 мл. При помощи многоканальных пипеток 96-луночный стерильный планшет для иммунологических исследований (с плоским дном) с крышкой заполняли двойными серийными разведениями исследуемых извлечений. После приготовления разведений инокулировали приготовленной суспензией исследуемого микроорганизма. Инкубацию проводили в обычной атмосфере при температуре 35°C. При проведении инкубации планшет закрывали крышкой для предотвращения высыхания содержимого лунок. Учет результатов проводили визуально. Для определения наличия роста микроорганизма лунки с посевами просматривали в проходящем свете. Минимальное подавляющее рост разведение определяли по лунке, в которой подавлялся видимый рост микроорганизмов. Для оценки влияния на результаты исследования антимикробного действия спирта в исследовании дополнительно определяли его действие на тестовые культуры микроорганизмов методом двойных серийных разведений (положительный контроль).

**Результаты и обсуждение.** В процессе микробиологического анализа были получены следующие результаты. Для настоя цветков календулы наблюдалась достаточно высокая активность в отношении всех изученных штаммов. В частности, настой оказывает антимикробное действие в отношении *Escherichia coli* до разведения в 4 раза, в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Bacillus cereus* до разведения в 8 раз, и в отношении *Candida albicans* до разведения в 32 раза (табл. 1).

Промышленный образец Тульской фармацевтической фабрики, настойка (1:10) на 70% спирте, проявил антибактериальную активность в отношении всех указанных штаммов, кроме кишечной палочки. В частности, настойка оказывает антимикробное действие в отношении *Staphylococcus aureus* до разведения в 8 раз, в отношении *Pseudomonas aeruginosa* до разведения в 16 раз, а также в отношении *Bacillus cereus* и *Candida albicans* до разведения в 64 раза (табл. 2).

studies (flat-bottomed) with the lid was filled with a double serial dilution of the investigated substances by the help of multichannel pipettes. After preparing the dilutions it was inoculated with the prepared suspension of the tested microorganism. Incubation was carried out in ordinary atmosphere at the temperature 35 °C. During the incubation, the plate was covered to prevent drying of the content of the cavity. Calculation of the results was performed visually. To determine the presence of microorganism growth cavity with bacterial inoculation were viewed in transmitted light. Minimum growth inhibitory dilution is determined by the cavity, which was suppressed by the visible growth of microorganisms. It was considered the influence on the results of the study of antimicrobial action of alcohol. For this aim this effect was determined on test cultures of microorganisms by double serial dilutions (positive control).

**Results and discussion.** During microbiological analysis the following results were obtained. For infusion of calendula flowers there was a revealed high activity against all the studied strains. In particular, the infusion has antimicrobial activity against *Escherichia coli* to 4 times dilutions, against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* to 8 times dilution, and in relation to *Candida albicans* to 32 times dilution (table 1).

Industrial sample of the Tula pharmaceutical factory, tincture (1:10) at 70% ethanol showed antibacterial activity against all these strains, except for *E.coli*. In particular, the tincture has antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* to 8 times dilutions, against *Pseudomonas aeruginosa* to 16 times dilution, as well as against *Bacillus cereus* and *Candida albicans* to 64 times dilution (table 2).

**Таблица 1 – Антимикробная активность водного извлечения из цветков календулы лекарственной (1:20) (экстрагент – вода очищенная)****Table. 1 – Antimicrobial activity of water extract of calendula flowers (1:20) (extragent – purified water)**

Штамм микроорганизма / Microbial strain	Порядковый номер разведения / Serial number of dilution											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Staphylococcus aureus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Escherichia coli</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Bacillus cereus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Candida albicans</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth

**Таблица 2 – Антимикробная активность настойки цветков календулы (1:10) (экстрагент – спирт этиловый 70%)****Table. 2 – Antimicrobial activity of tincture of calendula flowers (1:10) (extragent – 70% ethanol)**

Штамм микроорганизма / Microbial strain	Порядковый номер разведения / Serial number of dilution											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Staphylococcus aureus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Escherichia coli</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Bacillus cereus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Candida albicans</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth

По результатам анализа для настойки цветков календулы (1:5) на 70% спирте выявлена антибактериальная активность в отношении таких возбудителей, как *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* до разведения в 8 раз, а также в отношении *Bacillus cereus* до разведения в 256 раз (табл.3).

В сравнительном аспекте жидкий экстракт цветков календулы (1:2) 40% по сравнению с жидким экстрактом (1:2) 70% имеет наиболее широкий спектр воздействия на микроорганизмы, а именно: на *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

The analysis for tincture of Calendula (1:5) at 70% ethanol revealed antimicrobial activity against such pathogens as *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* to 8 times dilution, as well as against *Bacillus cereus* to 256 times dilution (table. 3).

Liquid extract of Calendula flowers (1:2) on 40% ethanol in comparison to the liquid extract (1:2) 70% ethanol has the widest range of effects on microorganisms, namely: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*,

*cereus* и *Candida albicans*. В отношении *Staphylococcus aureus* жидкий экстракт на 70% спирте не оказывает антимикробное действие. Однако жидкий экстракт на 70% спирте оказывает наиболее интенсивную антимикробную активность на *Bacillus cereus* до разведения в 256 раз, в то время как жидкий экстракт на 40% спирте оказывает наиболее интенсивную антимикробную активность на *Candida albicans* до разведения в 16 раз. В отношении *Pseudomonas aeruginosa* у обоих экстрактов проявляется одинаковая антимикробная активность до разведения в 8 раз (табл. 4, 5).

*Bacillus cereus*, and *Candida albicans*. Against *Staphylococcus aureus* liquid extract on 70% ethanol has no antimicrobial effect. However, the liquid extract on 70% ethanol has the most intense on the antimicrobial activity to *Bacillus cereus* to 256 times dilution, while the liquid extract at 40% alcohol showed more intensive antimicrobial activity on *Candida albicans* to 16 times dilution. Turn out that against *Pseudomonas aeruginosa* both extracts has equal antimicrobial activity to 8 times dilution (table 4 and table 5).

**Таблица 3 – Антимикробная активность настойки цветков календулы (1:5) (экстрагент – спирт этиловый 70%)**

**Table. 3 – Antimicrobial activity of tincture of calendula flowers (1:5) (extragent – 70% ethanol)**

Штамм микроорганизма / Microbial strain	Порядковый номер разведения / Serial number of dilution											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Staphylococcus aureus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Escherichia coli</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Bacillus cereus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Candida albicans</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth

**Таблица 4 – Антимикробная активность жидкого экстракта цветков календулы (1:2) (экстрагент – спирт этиловый 40%)**

**Table. 4 – Antimicrobial activity of liquid extract of calendula flowers (1:2) (extragent – 40% ethanol)**

Штамм микроорганизма / Microbial strain	Порядковый номер разведения / Serial number of dilution											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Staphylococcus aureus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Escherichia coli</i>	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Bacillus cereus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Candida albicans</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth



**Таблица 5 – Антимикробная активность жидкого экстракта цветков календулы (1:2) (экстрагент – спирт этиловый 70%)****Table. 5 – Antimicrobial activity of liquid extract of calendula flowers (1:2) (extragent –70% ethanol)**

Штамм микроорганизма / Microbial strain	Порядковый номер разведения / Serial number of dilution											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Staphylococcus aureus</i>	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Escherichia coli</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Bacillus cereus</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth
<i>Candida albicans</i>	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Роста нет / No growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth	Рост / Growth

Интересно, что жидкий экстракт цветков календулы (1:2) на 70% спирте проявляет наибольшую антимикробную активность среди всех исследуемых извлечений календулы лекарственной.

### Выводы

Проведено скрининговое исследование антибактериальной активности извлечений цветков календулы лекарственной. Выявлено, что наиболее широким спектром антибактериальной активности обладает настой цветков календулы. В отношении *Pseudomonas aeruginosa* наиболее активным извлечением является настойка (1:10) на 70% спирте, в отношении *Escherichia coli* единственным извлечением, проявившим антимикробную активность, является настой цветков календулы (1:20), в отношении *Bacillus cereus* наибольшую активность проявили настойка цветков календулы (1:5) на 70% спирте и жидкий экстракт (1:2) на 70% спирте, в отношении *Candida albicans* наибольшую активность проявила настойка (1:10) на 70% спирте.

### Библиографический список

1. Афанасьева П.В., Куркина А.В. Обоснование подходов к фармацевтическому анализу сырья и препаратов календулы

It is interesting that liquid extract of pot marigold (1:2) on 70% alcohol revealed highest antimicrobial activity among all investigated objects on base of *Calendula officinalis* flowers.

### Conclusions

The screening study of antibacterial activity of extracts of Calendula flowers was carried out. It was revealed that the widest range of antibacterial activity has an infusion of pot marigold flowers. Against *Pseudomonas aeruginosa* the most active object was tincture (1:10) with 70% ethanol, against *Escherichia coli* the only object that have demonstrated antimicrobial activity was infusion of Calendula flowers (1:20), against *Bacillus cereus* the highest activity was shown by Calendula flowers tincture (1:5) at 70% ethanol, and the liquid extract (1:2) on 70% ethanol, against *Candida albicans* tincture showed the highest activity (1:10) on 70% ethanol.

### References

1. Afanaseva P.V., Kurkina A.V. Obosnovanie podhodov k farmcevticheskomu analizu syrya i preparatov kalenduly lekarstvennoj [Substantiation of approaches to the phar-

- лекарственной // Научно-информационный межвузовский журнал «Аспирантский вестник Поволжья». 2015. № 5–6. С. 323–326.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). – 2-е изд. перераб. и доп.– Самара: ООО «Офорт; ГОУ ВПО «СамГМУ», 2007. – 1239 с.
  3. Государственная фармакопея СССР. – Вып. 2: Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – 11-е изд., доп.– М.: Медицина, 1990. – С. 237–238.
  4. Chandurkar P., Murab T., Ahakey N. et al. Antimicrobial activity of aqueous, acetone and methanol extracts of *Calendula officinalis* L. (Marigold) flower // International Journal of Pure & Applied Bioscience. 2015. Vol. 3, No. 2. P. 386–388.
  5. Efstratios E., Hussain A.I., Nigam P.S. et al. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens // Complementary Therapies in Clinical Practice. 2012. Vol. 18. P. 173–176.
  6. Filho Filho J.C.C., Gondim B.L.C., Cunha D. A. et al. Physical properties and antibacterial activity of herbal tinctures of *Calendula* (*Calendula officinalis* L.) and Cashew Tree (*Anacardium occidentale* L.) // Pesq. Bras. Odontoped. Clin Integr. 2014. Vol. 14, No. 1. P. 49–53.
  7. Ghaima K.K., Rasheed S.F., Ahmed E.F. Antibiofilm, antibacterial and antioxidant activities of water extract of *Calendula officinalis* flowers // International Journal of Biological & Pharmaceutical Research. 2013. Vol. 4, No 7. P. 465–470.
  8. Goyal M., Goyal R., Goyal M. Antimicrobial and phytochemical estimation of *Calendula officinalis* against human pathogenic micro-maceutical analysis of raw material and phytopreparations of calendula ]. Nauchno-informacionnyj mezhvuzovskij zhurnal Aspirantskij vestnik Povilzhya [Scientific Information Journal Interuniversity Postgraduate Volga region Bulletin], 2015, no. 5-6, pp. 323–326.
  2. Kurkin V.A. Farmakognoziya [Pharmacognosy] Uchebnik dlya studentov farmaceuticheskikh vuzov (fakultetov) [Textbook for students of pharmaceutical universities (faculties)]. 2nd ed. Revised. and suppl. Samara: ООО “Etching, GOU VPO” Samara State Medical University “, 2007. – 1239 p.
  3. Gosudarstvennaia farmakopeia SSSR. Vyp. 2: metody analiza [State Pharmacopoeia of the USSR. Issue 2: General methods of analysis] MZ SSSR. 11-e izd., dop. Moscow, Meditsina [Medicine], 1990, pp. 237–238.
  4. Chandurkar P., Murab T., Ahakey N. et al. Antimicrobial activity of aqueous, acetone and methanol extracts of *Calendula officinalis* L. (Marigold) flower // International Journal of Pure & Applied Bioscience. – 2015. – Vol. 3, No. 2. – P. 386–388.
  5. Efstratios E., Hussain A.I., Nigam P.S. et al. Antimicrobial activity of *Calendula officinalis* petal extracts against fungi, as well as Gram-negative and Gram-positive clinical pathogens // Complementary Therapies in Clinical Practice, 2012, vol. 18, pp. 173–176.
  6. Filho Filho JCC. Gondim BLC, Cunha D A. et al. Physical properties and antibacterial activity of herbal tinctures of *Calendula* (*Calendula officinalis* L.) and Cashew Tree (*Anacardium occidentale* L.) // Pesq Bras Odontoped Clin Integr, 2014, vol. 14, no. 1, pp. 49–53.
  7. Ghaima K.K., Rasheed S.F., Ahmed E.F. Antibiofilm, antibacterial and antioxidant activities of water extract of *Calendula officinalis* flowers // International Journal of Biological & Pharmaceutical Research, 2013, vol. 4, no 7, pp. 465–470.
  8. Goyal M., Goyal R., Goyal M. Antimicrobial and phytochemical estimation of *Calendula officinalis* against human pathogenic microorganisms // International Journal of Innovations in Bio-Sciences, 2011, vol.1, pp. 1–10.
  9. Pandey A, Chandel E. In vitro evaluation of antibacterial activity of *Calendula officina-*

- organisms // International Journal of Innovations in Bio-Sciences. 2011. Vol.1. P. 1–10.
9. Pandey A., Chandel E. In vitro evaluation of antibacterial activity of *Calendula officinalis* against MDR pathogens // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2014. Vol. 3, No. 11. P. 879–898.
10. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания (МУК 4.2.1890-04) // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306–359.
- lis* against MDR pathogens // World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 2014, vol. 3, no. 11, pp. 879–898.
10. Opređenje čuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam (Metodicheskie ukazaniia MUK 4.2.1890-04). [Determination of microorganisms sensitivity to antibacterial drugs (Methodological guidelines MUK 4.2.1890-04)] Klinicheskaia mikrobiologija i antimikrobnaja khimioterapiia [Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy], 2004, vol. 6 (4), pp. 306–359.

\* \* \*

*Афанасьева Полина Валериевна – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета. Область научных интересов: фармакогнозия и фитотерапия. E-mail: apolinarija03@mail.ru.*

*Куркина Анна Владимировна – доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета. Область научных интересов: фармакогнозия и фитотерапия. E-mail: kurkina-av@yandex.ru.*

*Куркин Владимир Александрович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета. Область научных интересов: фармакогнозия, ботаника и фитотерапия. E-mail: kurkinvladimir@yandex.ru.*

*Лямин Артем Викторович – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии Самарского государственного медицинского университета. Область научных интересов: микробиология. E-mail: avlyamin@rambler.ru.*

*Жестков Александр Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии Самарского государственного медицинского университета. Область научных интересов: микробиология. E-mail: microbiology@samsmu.ru.*

\* \* \*

*Afanasyeva Polina Valerievna - postgraduate student of the Chair of Pharmacognosy with Botany and Phytotherapy Basics at Samara State Medical University. Area of expertise: pharmacognosy and phytotherapy. E-mail: apolinarija03@mail.ru.*

*Kurkina Anna Vladimirovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Assistant Professor of the Chair of Pharmacognosy with Botany and Phytotherapy Basics at Samara State Medical University. Area of expertise: pharmacognosy, phytotherapy, standardization of medicinal raw materials. E-mail: kurkina-av@yandex.ru*

*Kurkin Vladimir Aleksandrovich – doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Chair of Pharmacognosy with Botany and Phytotherapy Basics at Samara State Medical University. Area of expertise: Pharmacognosy, botany, and phytothereapy. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru.*

*Lyamin Artyom Viktorovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer of the Chair of General and Clinical Microbiology, Immunology, and Allergology at Samara State Medical University. Area of expertise: microbiology. E-mail: avlyamin@rambler.ru.*

*Zhestkov Aleksandr Viktorovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Chair of General and Clinical Microbiology, Immunology, and Allergology at Samara State Medical University. Area of expertise: microbiology. E-mail: microbiology@samsmu.ru.*