

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕЖВУЗОВСКИЙ ЖУРНАЛ



АСПИРАНТСКИЙ ВЕСТНИК

Поволжья

ISSN 2072-2354
eISSN 2410-3764

<https://journals.eco-vector.com/2410-3764>
<http://asptestnik.com>

SCIENTIFIC-PRACTICAL INTERCOLLEGIATE JOURNAL

ASPIRANTSKIY VESTNIK

Dovolzhniya

МЕДИЦИНА



5-6

2021



Журнал издается 4 раза в год

МЕДИЦИНА<http://aspvestnik.com/index.html>**Учредитель журнала — Ассоциация вузов Самарской области
«Самарский региональный научно-образовательный комплекс»****ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР***Г.П. Котельников*, академик РАН, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)**ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА***И.Л. Давыдкин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ****(Медицина)***Ю.К. Янов*, академик РАН, д-р мед. наук, профессор (Россия, Санкт-Петербург)*В.Н. Павлов*, член-корреспондент РАН, д-р мед. наук, профессор (Россия, Уфа)*В.М. Попков*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*А.Н. Митрошин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Пенза)*А.П. Момот*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Барнаул)*Е.А. Попов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Астрахань)*Т.А. Федорина*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*Ю.В. Щукин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*И.С. Явелов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Москва)**РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ****Клиническая медицина***С.А. Бабанов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*К.З. Бахтиярова*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Уфа)*С.С. Бессмельцев*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Санкт-Петербург)*Н.В. Болотова*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*Е.А. Бородулина*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*С.В. Булгакова*, д-р мед. наук, доцент (Россия, Самара)*Д.А. Валишин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Уфа)*А.Ф. Вербовой*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*С.В. Вертянкин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*Т.Ю. Владимирова*, канд. мед. наук, доцент (Россия, Самара)*Ш.Х. Ганцев*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Уфа)*Л.П. Герасимова*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Уфа)*В.И. Горемыкин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*Д.Б. Демин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Оренбург)*Д.В. Дупляков*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*А.В. Жестков*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*С.Н. Измалков*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*О.И. Каганов*, д-р мед. наук, доцент (Россия, Самара)*В.А. Калинин*, д-р мед. наук, доцент (Россия, Самара)*Т.Г. Каменских*, д-р мед. наук, доцент (Россия, Саратов)*Н.А. Кароли*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*С.В. Козлов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*Д.Ю. Константинов*, канд. мед. наук, доцент (Россия, Самара)*Е.А. Корьмасов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*В.И. Купаев*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*Ю.В. Ларцев*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*А.В. Лепилин*, член-корреспондент РАЕН, д-р мед. наук, профессор, (Россия, Саратов)*И.С. Липатов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*А. Лихтенберг*, доктор медицины (Германия, Дюссельдорф)*Л.И. Мазур*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*И.В. Макаров*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*В.М. Малов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*О.В. Мареев*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*В.Р. Межебовский*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Оренбург)*Т.Р. Мухаммадеев*, д-р мед. наук, доцент (Россия, Уфа)*Р.С. Низамова*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*И.А. Норкин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*А.М. Осадчук*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*В.Д. Печуров*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*И.Е. Повереннова*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*О.М. Посненкова*, д-р мед. наук, доцент (Россия, Саратов)*Е.Е. Савельева*, д-р мед. наук, доцент (Россия, Уфа)*С.А. Сайганов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Санкт-Петербург)*Р.И. Сайфутдинов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Оренбург)*И.А. Салов*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*А.Г. Сонис*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*С.А. Сушков*, канд. мед. наук, доцент (Беларусь, Витебск)*И.Е. Рогожина*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*Д.А. Трунин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Самара)*Ф. Фаризон*, д-р мед. наук, профессор (Франция, Сент-Этьен)*Л.М. Фархутдинова*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Уфа)*Ю.И. Черненко*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*Ю.Г. Шапкин*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*Ю.Г. Шварц*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*И.И. Шоломов*, член-корреспондент РАЕН, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*А.А. Шульдяков*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)**Фармацевтические науки***Е.В. Авдеева*, д-р фарм. наук, профессор (Россия, Самара)*Е.П. Гладунова*, д-р фарм. наук, доцент (Россия, Самара)*В.А. Куркин*, д-р фарм. наук, профессор (Россия, Самара)*И.Г. Новокрещенова*, д-р мед. наук, профессор (Россия, Саратов)*А.В. Солонина*, д-р фарм. наук, доцент (Россия, Пермь)*И.К. Петрухина*, д-р фарм. наук, доцент (Россия, Самара)*Н.В. Полуконова*, д-р биол. наук (Россия, Саратов)*Ф.А. Халиуллин*, д-р фарм. наук, профессор (Россия, Уфа)**Ответственный секретарь:** Н.Ю. Кувшинова, канд. псих. наук, доцент (Россия, Самара)**Ответственные редакторы номера:** Е.А. Слоева, канд. филол. наук, доцент; Н.Ю. Кувшинова, канд. псих. наук, доцент (Россия, Самара)**Редактор английского текста:** Т.В. Рожкова, канд. филол. наук, доцент (Россия, Самара)

Свидетельство Роскомнадзора

о регистрации средства массовой информации
ПИ № ФС 77-13193 от 10.07.2002Журнал включен Высшей аттестационной
комиссией Министерства образования
и науки Российской Федерации в перечень
ведущих рецензируемых научных журналов
и изданий для публикации основных научных
результатов диссертаций на соискание
ученой степени кандидата и доктора наук
по следующим группам специальностей
научных работников:**14.01.00** — Клиническая медицина**14.01.01** — Акушерство и гинекология**14.01.02** — Эндокринология**14.01.03** — Болезни уха, горла, носа**14.01.05** — Кардиология**14.01.07** — Глазные болезни**14.01.09** — Инфекционные болезни**14.01.11** — Нервные болезни**14.01.14** — Стоматология**14.01.15** — Травматология и ортопедия**14.01.23** — Урология**14.01.25** — Пульмонология**14.04.00** — Фармацевтические науки**14.04.02** — Фармацевтическая химия,
фармакогнозия**14.04.03** — Организация фармацевтиче-
ского дела**09.00.00** — Философские наукиЖурнал включен в Российский индекс
научного цитирования: www.elibrary.ruИндекс издания в объединенном каталоге
«Пресса России»: 42023**Адрес редакции:** 443099, Россия, Самара,
ул. Чапаевская, 89. Тел.: +7(846)333-30-86.E-mail: aspvestnik@iist.ru,
aspirantura_samgtu@mail.ru

Адрес сайта в сети «Интернет»:

<https://www.aspvestnik.com/>,
<https://journals.eco-vector.com/2410-3764>Оригинал-макет изготовлен ООО «Эко-Вектор Ай-Пи».
191186, Санкт-Петербург, Аптекарский переулок, 3А, 1Н.
Подписано в печать 29.09.21. Формат 60×90^{1/8}.
Усл. печ. л. 26,75. Тираж 250 экз. Печать офсетная.
Заказ № 22031631Отпечатано в ООО «Типография Лесник».
197183, Санкт-Петербург, ул. Сабировская, 37.
Тел.: +7(812)502-71-68. <https://l-print.spb.ru/>Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов. Направляя статью в редакцию, авторы принимают условия договора публичной оферты. С правилами для авторов и договором публичной оферты можно ознакомиться на сайте: <https://journals.eco-vector.com/2410-3764>. Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения издателя и редакции, ссылка на журнал обязательна

**Founder of the journal is the Association of Higher Education Institutions of Samara Region
 "Samara Regional Academic Organization"**

EDITOR-IN-CHIEF

G.P. Kotelnikov, academician of Russian Academy of Science, PhD,
 professor (Russia, Samara)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

I.L. Davydkin, PhD, professor (Russia, Samara)

EDITORIAL REVIEW BOARD

(Medicine)

Yu.K. Yanov, academician of Russian Academy of Science, PhD,
 professor (Russia, Saint Petersburg)

V.N. Pavlov, Corresponding Member of Russian Academy of Science,
 PhD, professor (Russia, Ufa)

V.M. Popkov, PhD, professor (Russia, Saratov)

A.N. Mitroshin, PhD, professor (Russia, Penza)

A.P. Momot, PhD, professor (Russia, Barnaul)

E.A. Popov, PhD, professor (Russia, Astrakhan)

T.A. Fedorina, PhD, professor (Russia, Samara)

Yu.V. Shchukin, PhD, professor (Russia, Samara)

I.S. Yavelov, PhD, professor (Russia, Moscow)

EDITORIAL BOARD

Clinical Medicine

S.A. Babanov, PhD, professor (Russia, Samara)

K.Z. Bahitjarova, PhD, professor (Russia, Ufa)

S.S. Bessmeltsev, PhD, professor (Russia, Saint Petersburg)

N.V. Bolotova, PhD, professor (Russia, Saratov)

E.A. Borodulina, PhD, professor (Russia, Samara)

S.V. Bulgakova, PhD, associate professor (Russia, Samara)

D.A. Valishin, PhD, professor (Russia, Ufa)

A.F. Verbovoy, PhD, professor (Russia, Samara)

S.V. Vertjankin, PhD, professor (Russia, Saratov)

T.Yu. Vladimirova, PhD, associate professor (Russia, Samara)

Sh.H. Gancev, PhD, professor (Russia, Ufa)

L.P. Gerasimova, PhD, professor (Russia, Ufa)

V.I. Goremykin, PhD, professor (Russia, Samara)

D.B. Demin, PhD, professor (Russia, Orenburg)

D.V. Dupljakov, PhD, professor (Russia, Samara)

A.V. Zhestkov, PhD, professor (Russia, Samara)

S.N. Izmalkov, PhD, professor (Russia, Samara)

O.I. Kaganov, PhD, associate professor (Russia, Samara)

V.A. Kalinin, PhD, associate professor (Russia, Samara)

T.G. Kamenskih, PhD, associate professor (Russia, Saratov)

N.A. Karoli, PhD, professor (Russia, Saratov)

S.V. Kozlov, PhD, professor (Russia, Samara)

D.Yu. Konstantinov, PhD, associate professor (Russia, Samara)

E.A. Korymasov, PhD, professor (Russia, Samara)

V.I. Kupaev, PhD, professor (Russia, Samara)

Yu.V. Larcev, PhD, professor (Russia, Samara)

A.V. Lepilin, Corresponding Member of Russian Academy of Natural
 Science, PhD, professor (Russia, Saratov)

I.S. Lipatov, PhD, professor (Russia, Samara)

A. Lichtenberg, PhD, professor (Germany, Dusseldorf)

L.I. Mazur, PhD, professor (Russia, Samara)

I.V. Makarov, PhD, professor (Russia, Samara)

V.M. Malov, PhD, professor (Russia, Samara)

O.V. Mareev, PhD, professor (Russia, Saratov)

V.R. Mezhebovskij, PhD, professor (Russia, Orenburg)

T.R. Muhamadeev, PhD, associate professor (Russia, Ufa)

R.S. Nizamova, PhD, professor (Russia, Samara)

I.A. Norkin, PhD, professor (Russia, Saratov)

A.M. Osadchuk, PhD, professor (Russia, Samara)

D.V. Pechkurov, PhD, professor (Russia, Samara)

I.E. Poverennova, PhD, professor (Russia, Samara)

O.M. Posnenkova, PhD, associate professor (Russia, Saratov)

E.E. Savel'eva, PhD, associate professor (Russia, Ufa)

S.A. Sayganov, PhD, professor (Russia, Samara)

R.I. Sajfutdinov, PhD, professor (Russia, Orenburg)

I.A. Salov, PhD, professor (Russia, Saratov)

A.G. Sonis, PhD, professor (Russia, Samara)

V.A. Sushkov, PhD, associate professor (Belarus, Vitebsk)

I.E. Rogozhina, PhD, professor (Russia, Saratov)

D.A. Trunin, PhD, professor (Russia, Samara)

F. Farizon, PhD, professor (France, Saint-Etienne)

L.M. Farkhutdinova, PhD, professor (Russia, Ufa)

Yu.I. Chernenkov, PhD, professor (Russia, Saratov)

Yu.G. Shapkin, PhD, professor (Russia, Saratov)

Yu.G. Shvarc, PhD, professor (Russia, Saratov)

I.I. Sholomov, Corresponding Member of Russian Academy of Natural
 Science, PhD, professor (Russia, Saratov)

A.A. Shul'djakov, PhD, professor (Russia, Saratov)

Pharmaceutical Sciences

E.V. Avdeeva, PhD, professor (Russia, Samara)

E.P. Gladunova, PhD, associate professor (Russia, Samara)

V.A. Kurkin, PhD, professor (Russia, Samara)

I.G. Novokreshchenova, PhD, professor (Russia, Saratov)

A.V. Soloninina, PhD, associate professor (Russia, Perm)

I.K. Petrukhnina, PhD, associate professor (Russia, Samara)

N.V. Polukonova, PhD (Russia, Saratov)

F.A. Haliullin, PhD, professor (Russia, Ufa)

Executive Secretary: N.Yu. Kuvshinova, PhD, associate professor
 (Russia, Samara)

Executive editors: E.A. Sloeva, PhD, associate professor;
 N.Yu. Kuvshinova, PhD, associate professor (Russia, Samara)

Editor of English text: T.V. Rozhkova, PhD, associate professor
 (Russia, Samara)

Certificate of Federal Service
 for Supervision in the Sphere
 of Telecom, Information Technologies
 and Mass Communications
 PI No. FS 77-13193 dated 10.07.2002

Higher Attestation Commission includes
 the journal in the list of peer-reviewed journals
 recommended for the publications
 of the findings of candidate and doctoral
 thesis in Medicine on the specialties of

14.01.00 Clinical Medicine

14.01.01 Obstetrics and Gynecology

14.01.02 Endocrinology

14.01.03 ENT disorders

14.01.05 Cardiology

14.01.07 Eye Diseases

14.01.09 Infectious Diseases

14.01.11 Nervous Diseases

14.01.14 Dentistry

14.01.15 Traumatology and Orthopedics

14.01.23 Urology

14.01.25 Pulmonology

14.04.00 Pharmaceutical Sciences

14.04.02 Pharmaceutical chemistry,
 Pharmacognosy

14.04.03 Organization on Pharmacy

09.00.00 Philosophic Sciences

The journal is included in the Russian Science
 Citation Index: www.elibrary.ru

Index of publication in the Union Catalogue
 "Press of Russia" 42023

Editorial office address:

89 Chapaevskaya Str., Samara, Russia, 443099
 Tel.: +7(846)3333086

E-mail: aspvestnik@list.ru,
aspirantura_samgmu@mail

Website URL: www.aspvestnik.com,
<https://journals.eco-vector.com/2410-3764>

The point of view of the authors may not coincide with the opinion of the editors. Only articles prepared in accordance with the guidelines are accepted for publication. By sending the article to the editor, the authors accept the terms of the public offer agreement. The guidelines for authors and the public offer agreement can be found on the website: <https://journals.eco-vector.com/2410-3764>. Permissions to reproduce material must be obtained in writing to the publisher and retained in order to confirm the legality of using reproduced materials



Уважаемые коллеги!

Летопись полувековой истории фармацевтического факультета, а ныне — Института фармации СамГМУ, берет свое начало в 1971 г. Именно поэтому для фармацевтического образования Самарской области 2021 год стал юбилейным. За 50-летний период в стенах нашего вуза подготовлено свыше 10 тыс. дипломированных провизоров, которые сегодня формируют кадровый состав фармацевтической службы разных регионов страны.

Развитие фармацевтической отрасли в настоящее время находится в плоскости государственных приоритетов и служит одним из важнейших направлений реализации социальной политики нашей страны. И отрадно, что Институт фармации СамГМУ вносит важный вклад в развитие отечественной фармации.

Университет славится своими мощными научно-педагогическими школами, в числе которых почетное место занимает химико-фармацевтическая школа во главе с авторитетным ученым-фармакологом, заслуженным работником высшей школы РФ, почетным профессором СамГМУ, доктором фармацевтических наук, профессором Владимиром Александровичем Куркиным. Большой вклад в развитие фармацевтического образования СамГМУ внесли профессора, доценты, доктора и кандидаты наук: почетный профессор СамГМУ А.И. Агапов, П.Е. Кривенчук, Н.Д. Бакулин, А.Г. Старостенко, М.Л. Ткаченко, В.А. Давыдова, Б.П. Бучнев, А.Ф. Жукова, А.Д. Либерман, заслуженный деятель науки РФ А.А. Лебедев, заслуженный работник высшей школы В.А. Егоров, С.В. Первушкин, И.Ф. Шаталаев, Н.П. Аввакумова, А.В. Дубищев, Е.В. Авдеева, П.Г. Мизина, И.К. Петрухина, А.В. Воронин, С.Х. Шарипова, О.Н. Воронова, А.М. Ивановская, Е.Л. Абдулманова, Е.П. Гладунова, Л.Д. Климова, О.В. Бер, А.А. Сохина, О.Е. Правдивцева, В.Б. Браславский, И.И. Мунина, Н.В. Расцветова, А.В. Куркина, Л.В. Логинова, М.В. Егоров, А.В. Жданова, В.М. Рыжов и многие другие.

Институт фармации сегодня — наглядный пример эффективной интеграции образования, научно-исследовательской деятельности и практики. Профессорско-преподавательский состав Института, обладающий богатым опытом, высоким интеллектуальным потенциалом и огромной созидательной энергией, направляет все свои силы и знания на обучение будущего поколения провизоров.

Высокий потенциал профессорско-преподавательского коллектива, наличие мощной материально-технической базы, тесная взаимосвязь с практической фармацией, внедрение и использование в обучении современных образовательных технологий — все эти драйверы успешного развития позволяют Институту фармации СамГМУ удерживать лидирующие позиции в системе подготовки провизоров и с уверенностью смотреть в будущее.

У Института фармации СамГМУ есть не только славное историческое прошлое и достойное настоящее, но и светлое будущее. Желаю Институту процветания, сохранения и преумножения славных традиций, а профессорам, преподавателям, студентам, аспирантам и ординаторам — крепкого здоровья, благополучия, новых научных достижений и открытий, генерации новых идей, а также дальнейших успехов в реализации образовательных, научно-исследовательских и инновационных проектов!

От всей души желаю, чтобы рубеж 50-летнего юбилея для коллектива Института фармации СамГМУ стал символическим трамплином на пути к новым горизонтам развития!

*Ректор СамГМУ, профессор РАН, доктор медицинских наук, профессор
Александр Владимирович Колсанов*



Уважаемые коллеги!

Поздравляю вас со знаменательной датой — 50-летним юбилеем фармацевтического образования Самарской области!

История Самарского государственного медицинского университета неразрывно связана с историей фармацевтического факультета, который был открыт в 1971 г. Решение об открытии новой специальности было связано с острым недостатком фармацевтических кадров в аптечных организациях Самарской области и других регионов страны. Именно поэтому в Куйбышеве был создан первый на территории Поволжья фармацевтический факультет.

В год 50-летия фармацевтический факультет получил новый статус — был преобразован в Институт фармации. Сегодня здесь работают специалисты трех поколений: те, кто стоял у истоков создания фармацевтического факультета, преподаватели среднего поколения и перспективная молодежь. Преподаватели Института фармации СамГМУ осуществляют подготовку высококвалифицированных фармацевтических кадров, преданных своему призванию и высоко востребованных в практической фармации.

Поздравляю преподавателей, сотрудников, ординаторов и аспирантов Института фармации СамГМУ с этой знаменательной датой! Желаю вам здоровья, профессиональных и творческих успехов, оптимизма и новых побед на благо развития фармации!

Уверен, что накопленные за полувековую историю традиции и опыт позволят вам покорить новые вершины профессионального роста!

*Председатель Самарской Губернской Думы,
президент СамГМУ, академик РАН,
лауреат Государственной премии России,
трижды лауреат премии Правительства России,
заслуженный деятель науки Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор
Геннадий Петрович Котельников*



Глубокоуважаемые коллеги!

В юбилейный для фармацевтического образования 2021 год хочу поздравить всех преподавателей, сотрудников, студентов, ординаторов и аспирантов Института фармации, а также выпускников СамГМУ!

Мы гордимся тем, что Институт фармации СамГМУ сегодня — это мощная интегрирующая научно-образовательная структура по подготовке высококвалифицированных научных и практических кадров в области фармации. На кафедрах Института успешно реализуются образовательные программы додипломного и постдипломного профессионального уровня, проводится подготовка ординаторов, аспирантов, а также специалистов практической фармации. Кадровый потенциал Института формируют опытные преподаватели, для которых задача по подготовке высококвалифицированных провизоров стала смыслом всей жизни.

Наши коллеги-работодатели, представляющие разные сектора системы лекарственного обеспечения, подтверждают высокое качество подготовки выпускников СамГМУ. Неслучайно вышедшие из стен вуза провизоры формируют кадровый состав фармацевтических организаций многих регионов страны, работают в органах управления здравоохранением и фармацевтической службой, трудятся на фармацевтических предприятиях, в Центрах контроля качества лекарственных средств, успешно работают в вузах и ссузах.

Как преемник фармацевтического факультета Институт фармации СамГМУ создан на мощном фундаменте, заложенном нашими Учителями. И сегодня профессорско-преподавательский состав Института прилагает все усилия, чтобы сделать новый качественный шаг для достижения новых профессиональных вершин.

От всей души желаю всем сотрудникам, обучающимся и выпускникам СамГМУ крепкого здоровья, благополучия и новых творческих успехов!

*Директор Института фармации СамГМУ,
доктор фармацевтических наук, доцент
Александр Васильевич Воронин*

СОДЕРЖАНИЕ

ФАРМАЦИЯ

Фармацевтическая химия, фармакогнозия (14.04.02)

А.В. Воронин, А.В. Карпов

Планирование условий пробоподготовки лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина 9

М.Н. Качалкин, А.В. Воронин

Получение сорбентов для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов 16

А.Р. Мубинов, Е.В. Авдеева, В.А. Куркин, Г.М. Латыпова, Р.Р. Фархутдинов, В.А. Катаев, Т.К. Рязанова

Сравнительное исследование *in vitro* антиоксидантной активности некоторых перспективных жирных масел 23

О.А. Белова, В.А. Куркин, Т.К. Рязанова

Актуальные вопросы стандартизации корней солодки 30

Н.И. Зименкина, В.А. Куркин

Особенности стандартизации настойки коры ореха черного 36

Н.А. Рябов, В.М. Рыжов, В.А. Куркин, С.Д. Колпакова, А.В. Жестков, А.В. Лямин

Исследование антимикробной активности извлечений коры дуба черешчатого (*Quercus robur* L.) 48

А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин, А.И. Агапов

Фитохимическое исследование листьев представителей рода Сирень (*Syringa* L.) 58

Н.П. Аввакумова, Е.Е. Катунина, М.А. Кривопалова, А.В. Жданова, М.Н. Глубокова, М.Н. Качалкин

Показатели качества препарата гиматомелановых кислот как потенциального противоревматоидного средства 65

Д.А. Жданов, В.Б. Браславский, В.А. Куркин

Разработка методик определения влажности лекарственного растительного сырья отдельных морфологических групп инфракрасным термогравиметрическим способом 73

Т.К. Рязанова, В.А. Куркин, А.А. Шмыгарева, С.Н. Глущенко, А.И. Агапов

Актуальные вопросы стандартизации листьев алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) 78

PHARMACY

Pharmaceutical Chemistry, Pharmacognosy (14.04.02)

A.V. Voronin, A.V. Karpov

Medicines with active pharmaceutical ingredient diosmin: Planning of sample preparation 9

M.N. Kachalkin, A.V. Voronin

Preparation of sorbents for solid-phase extraction of salicylic acid from aqueous solutions 16

A.R. Mubinov, E.V. Avdeeva, V.A. Kurkin, G.M. Latypova, R.R. Farkhutdinov, V.A. Kataev, T.K. Ryazanova

Antioxidant activity of some promising fatty oils: Comparative study *in vitro* 23

O.A. Belova, V.A. Kurkin, T.K. Ryazanova

Standardization of licorice roots: Current issues 30

N.I. Zimenkina, V.A. Kurkin

Tincture of *Juglans nigra* L. bark: Peculiarities of standardization 36

N.A. Ryabov, V.M. Ryzhov, V.A. Kurkin, S.D. Kolpakova, A.V. Zhestkov, A.V. Lyamin

Study of the antimicrobial activity of the bark extracts of *Quercus robur* L. 48

A.D. Serebryakova, V.A. Kurkin, A.I. Agapov

Phytochemical study of leaves of the genus *Syringa* L. species 58

N.P. Avvakumova, E.E. Katunina, M.A. Krivopalova, A.V. Zhdanova, M.N. Glubokova, M.N. Kachalkin

Quality indicators of hyatomelanin acids preparation as a potential anti-rheumatoid agent 65

D.A. Zhdanov, V.B. Braslavskii, V.A. Kurkin

Determination of infrared thermogravimetric moisture (loss on drying) for different morphological group of medicinal plant raw materials: Development the techniques 73

T.K. Ryazanova, V.A. Kurkin, A.A. Shmygareva, S.N. Glushchenko, A.I. Agapov

The current issues of standardization of *Aloe arborescens* Mill. leaves 78

| | | | |
|---|-----|--|-----|
| <i>Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, И.Х. Шайхутдинов, С.В. Первушкин, О.В. Бер</i> | | <i>N.A. Volkova, V.A. Kurkin, O.E. Pravdivtseva, I.Kh. Shaikhutdinov, S.V. Pervushkin, O.V. Ber</i> | |
| Оптимизация способа получения препарата «Боярышника плодов настойка» | 87 | Method optimization for obtaining of "Hawthorn fruit tincture" | 87 |
| <i>Е.А. Урбанчик, В.А. Куркин, А.И. Агапов</i> | | <i>E.A. Urbanchik, V.A. Kurkin, A.I. Agapov</i> | |
| Фармакогностическое изучение некоторых видов рода Тополь (<i>Populus</i> L.), произрастающих в Самарской области | 92 | The pharmacognostic study of some species of the genus poplar (<i>Populus</i> L.) growing in the Samara Region | 92 |
| <i>К.Н. Сазанова, С.Х. Шарипова</i> | | <i>K.N. Sazanova, S.Kh. Sharipova</i> | |
| Сравнительное морфолого-анатомическое исследование плодов лабазника вязолистного [<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.] и плодов лабазника шестилепестного (<i>Filipendula hexapetala</i> Gilib.) | 98 | Fruits of meadowsweet [<i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim.] and dropwort (<i>Filipendula hexapetala</i> Gilib.): Comparative morphological and anatomical investigation | 98 |
| <i>А.Е. Савельева, А.В. Куркина</i> | | <i>A.E. Saveleva, A.V. Kurkina</i> | |
| Актуальные проблемы стандартизации цветков бархатцев отклоненных | 105 | Current issues of standardization of spreading marigold flowers | 105 |
| <i>А.А. Косенко, С.В. Первушкин, Н.Н. Желонкин, А.В. Куркина</i> | | <i>A.A. Kosenko, S.V. Pervushkin, N.N. Zhelonkin, A.V. Kurkina</i> | |
| Актуальные аспекты стандартизации биомассы <i>Spirulina platensis</i> | 112 | Current aspects of standardization of <i>Spirulina platensis</i> biomass | 112 |
| <i>М.Н. Глубокова, Н.П. Аввакумова, А.В. Жданова, М.А. Кривопалова, Е.Е. Катунина</i> | | <i>M.N. Glubokova, N.P. Avvakumova, A.V. Zhdanova, M.A. Krivopalova, E.E. Katunina</i> | |
| Гуминсодержащая лекарственная форма: технология, перспективы использования | 118 | Humins-containing dosage form: Technology, application prospects | 118 |
| <i>А.С. Шереметьева, Н.А. Дурнова, Ю.Г. Чернышева</i> | | <i>A.S. Sheremetyeva, N.A. Durnova, Yu.G. Chernysheva</i> | |
| Влияние экстрактов тимьяна Маршалла на антиоксидантные процессы в опыте <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i> | 127 | Effect of <i>Thymus marschallianus</i> extract on lipid peroxidation processes <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> experiments | 127 |
| <i>А.С. Цибина, В.А. Куркин</i> | | <i>A.S. Tsibina, V.A. Kurkin</i> | |
| Актуальные аспекты фармакогностического исследования травы монарды дудчатой (<i>Monarda fistulosa</i> L.) | 132 | Current issues of the pharmacognostic study of <i>Monarda fistulosa</i> L. herb | 132 |
| <i>В.В. Чевидаев, Д.О. Боков, И.А. Самылина</i> | | <i>V.V. ChevidaeV, D.O. Bokov, I.A. Samylina</i> | |
| Стандартизация грудного сбора № 2: современное состояние и перспективы | 141 | Standardization of pectoral species No. 2: Current state and prospects | 141 |
| Организация фармацевтического дела (14.04.03) | | Organization on Pharmacy (14.04.03) | |
| <i>П.Р. Блинкова, И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, Т.К. Рязанова</i> | | <i>P.R. Blinkova, I.K. Petrukhina, P.A. Lebedev, T.K. Ryazanova</i> | |
| Особенности потребления лекарственных препаратов, применяемых для лечения пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в розничном секторе фармацевтического рынка | 150 | Features of drug utilization for the treatment of patients with cardiovascular diseases: Retail sector of the pharmaceutical market | 150 |
| <i>Е.П. Гладунова, Я.Е. Ширококов, Е.А. Бородулина</i> | | <i>E.P. Gladunova, Ya.F. Shirobokov, E.A. Borodulina</i> | |
| Анализ ассортимента лекарственных препаратов и объема их потребления у пациентов старших возрастных групп с диагнозом COVID-19 | 161 | Analysis of drugs assortment and their consumption in older age patients diagnosed with COVID-19 | 161 |
| <i>Ф.Р. Пайгин, Е.П. Гладунова</i> | | <i>F.R. Paygin, E.P. Gladunova</i> | |
| Подходы к совершенствованию обеспечения медицинских организаций товарами аптечного ассортимента | 167 | Provision of medical organizations with pharmaceutical products: Approaches for the improvement | 167 |

Я.Е. Широбоков, Е.П. Гладунова, Е.А. Бородулина
 Обзор клинических исследований лекарственных
 препаратов для лечения пациентов с новой
 коронавирусной инфекцией (COVID-19) 177

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Акушерство и гинекология (14.01.01)

М.А. Каганова

Особенности экспрессии генов врожденного
 иммунитета в тканях плаценты и плодных
 оболочек при доношенной беременности 191

Кардиология (14.01.05)

А.В. Рыбас, Е.Н. Данилова, И.Б. Павлова

Острый инфаркт миокарда у беременной
 на фоне врожденной тромбофилии 200

Стоматология (14.01.14)

Д.А. Андриянов

Диагностика морфофункционального состояния
 височно-нижнечелюстного сустава у детей с
 дистальной окклюзией 205

Ya.E. Shirobokov, E.P. Gladunova, E.A. Borodulina
 Overview of clinical trials
 of drugs for the treatment of patients
 with new coronavirus infection (COVID-19) 177

CLINICAL MEDICINE

Obstetrics and Gynecology (14.01.01)

M.A. Kaganova

Gene expression of the congenital immunity
 in tissues of the placenta and fetal membranes
 in full-term pregnancy 191

Cardiology (14.01.05)

A.V. Rybas, E.N. Danilova, I.B. Pavlova

Acute myocardial infarction in a pregnant woman
 with congenital thrombophilia 200

Stomatology (14.01.14)

D.A. Andriyanov

Diagnostics of the morphological and functional state
 of temporomandibular joint in children with distal
 occlusion 205

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ (14.04.02)
PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, PHARMACOGNOSY (14.04.02)

УДК 614.272, 615.074

DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.9-15>

ПЛАНИРОВАНИЕ УСЛОВИЙ ПРОБОПОДГОТОВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ ДИОСМИНА

А.В. Воронин, А.В. Карпов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Воронин А.В., Карпов А.В. Планирование условий пробоподготовки лекарственных препара-
тов на основе фармацевтической субстанции диосмина // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 9–15.
DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.9-15>

Поступила: 05.08.2021

Одобрена: 28.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** В большинстве лекарственных препаратов, получаемых в виде таблетированных лекарствен-
ных форм, диосмин находится в составе микронизированной флавоноидной фракции, что является причиной
низкой эффективности его извлечения методом твердо-жидкостной экстракции.

Цель исследования — определение оптимальных условий пробоподготовки некоторых лекарственных пре-
паратов на основе фармацевтической субстанции диосмина с применением математического планирования
эксперимента.

Материалы и методы. Объектами исследования служили лекарственные препараты на основе фарма-
цевтической субстанции диосмина (таблетированные лекарственные формы): Детралекс 1000 мг, Венарус
900 мг, Детравенол 1000 мг, Флебавен 1000 мг, Флебофа 600 мг, Флебодиа 600 мг. Оценку степени извлечения
диосмина методом твердо-жидкостной экстракции проводили по схеме многофакторного трехуровневого
планирования экспериментов с применением плана Бокса – Бенкена.

Результаты. Проведена оценка влияния ряда факторов, определяющих извлечение диосмина из лекар-
ственных препаратов Детралекс 1000 мг, Венарус 900 мг, Детравенол 1000 мг, Флебавен 1000 мг, Флебофа
600 мг, Флебодиа 600 мг. Для каждого лекарственного препарата получены математические модели, описы-
вающие процедуру твердо-жидкостной экстракции. Наиболее значимый фактор, определяющий эффективность
экстракции диосмина из лекарственных препаратов (таблетированных лекарственных форм), — концен-
трация натрия гидроксида. Другие исследуемые факторы (концентрация ацетонитрила, время экстракции,
время центрифугирования, добавление электролита аммония сульфата) значимого влияния не оказывают.
Оптимальной концентрацией натрия гидроксида в экстрагенте считается 0,02 моль/л, а концентрация выше
0,02 моль/л не приводит к увеличению эффективности экстракции.

▪ **Ключевые слова:** диосмин; пробоподготовка; твердо-жидкостная экстракция; математическое планиро-
вание.

MEDICINES WITH ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT DIOSMIN: PLAINING OF SAMPLE PREPARATION

A.V. Voronin, A.V. Karpov

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Voronin AV, Karpov AV. Medicines with active pharmaceutical ingredient diosmin: Plaining of sample
preparation. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhya*. 2021;(5-6):9–15. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.9-15>

Received: 05.08.2021

Revised: 28.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** Most drugs in the form of tablets contain diosmin in the micronized flavonoid fraction. This is the reason for the low level recovery by means of solid-liquid extraction.

AIM: to determine optimal conditions for sample preparation of some drugs with active pharmaceutical ingredient diosmin with the use of mathematical experiment planning (Box-Behnken design).

MATERIALS AND METHODS: The study subjects were tablets Detralex® 1000 mg, Venarus® 900 mg, Detravenol® 1000 mg, Flebaven® 1000 mg, Phlebopha® 600 mg, Phlebodia 600 mg. Estimation of diosmin recovery by the method of solid-liquid extraction was made according to the algorithm of full factorial design with three level factors (Box-Behnken design).

RESULTS: The effect of some factors determining the extraction of diosmin from tablets Detralex® 1000 mg, Venarus® 900 mg, Detravenol® 1000 mg, Flebaven® 1000 mg, Phlebopha® 600 mg, Phlebodia 600 mg was estimated. Mathematical (regression) models of solid-liquid extraction of diosmin for each drug were developed. The most significant factor determining the diosmin recovery from drugs (tablet formulation) is the sodium hydroxide concentration. Other factors (acetonitrile concentration, extraction time, centrifugation time, addition of ammonium sulfate) fail to exert significant effect. The optimal value of sodium hydroxide concentration is 0.02 mol/l. Diosmin recovery doesn't increase after the increase of the sodium hydroxide concentration above 0.02 mol/l.

▪ **Keywords:** diosmin; sample preparation; solid-liquid extraction; mathematical planning.

Обоснование

Выбор доступных и объективных методов контроля качества лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина — одна из важных практических задач фармацевтического анализа. Пробоподготовка как важный этап количественного анализа в значительной степени определяет метрологические характеристики всей методики в целом. В большинстве лекарственных препаратов, получаемых в виде таблетированных лекарственных форм, диосмин находится в составе микроиницированной флавоноидной фракции, что можно считать причиной низкой эффективности его извлечения методом твердо-жидкостной экстракции [4–6].

Цель исследования — определение оптимальных условий пробоподготовки некоторых лекарственных препаратов на основе фармацевтической субстанции диосмина с применением математического планирования эксперимента.

Материалы и методы

Для исследования использовали следующие лекарственные препараты в виде таблетированных лекарственных форм: Детралекс 1000 мг, Венарус 900 мг, Детравенол 1000 мг, Флебавен 1000 мг, Флебофа 600 мг, Флебодиа 600 мг.

В качестве параметра оптимизации была выбрана эффективность экстракции (далее — степень извлечения диосмина из исследуемой лекарственной формы, %). Основные факторы, влияющие на параметр оптимизации: концентрация натрия гидроксида (экстрагент), моль/л; концентрация ацетонитрила (растворитель для разрушения мицеллярных структур диосмина), %; время экстракции, мин; время центрифугирования, мин; концентрация аммония сульфата (высаливающий реагент), %.

Уровни варьирования указанных факторов при проведении пробоподготовки представлены в табл. 1.

Оценку степени извлечения диосмина проводили по схеме многофакторного трехуров-

Таблица 1 / Table 1

Уровни варьирования факторов, влияющих на степень извлечения диосмина из лекарственных препаратов (таблетированных лекарственных форм)

Factor levels of diosmin extraction from drugs (tablet formulation)

| Фактор | Уровни варьирования | | |
|--|---------------------|------|------|
| | -1 | 0 | +1 |
| X_1 — концентрация раствора натрия гидроксида, моль/л | 0,1 | 0,05 | 0,02 |
| X_2 — концентрация ацетонитрила, % (от объема водной фазы) | 50,0 | 25,0 | – |
| X_3 — время экстракции, мин | 5,0 | 10,0 | 20,0 |
| X_4 — время центрифугирования, мин | 5,0 | 10,0 | 20,0 |
| X_5 — добавление электролита аммония сульфата, % | 10,0 | 5,0 | – |

Таблица 2 / Table 2

Статистические характеристики данных эффективности экстракции диосмина из лекарственных препаратов
Statistical parameters of diosmin extraction from drugs (tablets)

| Лекарственные препараты | Блоки выборки, $n = 46$ | Среднее значение, x_{cp} | Медиана, m | Стандартное отклонение, S | Асимметрия | Эксцесс | Уровень значимости критерия Колмогорова - Смирнова |
|-------------------------|-------------------------|----------------------------|--------------|-----------------------------|------------|---------|--|
| Детралекс | Блок 1 | 71,51 | 71,04 | 9,52 | 0,09 | -0,13 | >0,2 |
| | Блок 2 | 67,34 | 66,23 | 11,57 | 0,38 | -0,25 | >0,2 |
| Венарус | Блок 1 | 84,81 | 82,88 | 7,68 | 0,65 | -0,38 | >0,2 |
| | Блок 2 | 84,91 | 83,52 | 7,77 | 0,66 | -0,32 | >0,2 |
| Детравенол | Блок 1 | 84,49 | 83,90 | 7,22 | 0,57 | -0,25 | >0,2 |
| | Блок 2 | 84,36 | 83,18 | 7,62 | 0,72 | -0,41 | >0,2 |
| Флебавен | Блок 1 | 77,39 | 78,06 | 11,93 | 0,05 | -0,37 | >0,2 |
| | Блок 2 | 77,39 | 78,06 | 11,93 | 0,05 | -0,37 | >0,2 |
| Флебодиа | Блок 1 | 76,71 | 75,19 | 11,42 | 0,49 | -0,49 | >0,2 |
| | Блок 2 | 75,91 | 73,26 | 11,50 | 0,63 | -0,46 | >0,2 |
| Флебофа | Блок 1 | 78,08 | 78,01 | 11,27 | 0,53 | -0,47 | >0,2 |
| | Блок 2 | 76,91 | 75,26 | 10,27 | 0,50 | -0,42 | >0,2 |

невого планирования экспериментов с применением плана Бокса – Бенкена (5 факторов, 2 блока, 46 опытов) с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0 [2, 3]. Уровень доверительной вероятности принимали равным 95 %. Для получения математической модели процесса твердо-жидкостной экстракции диосмина были реализованы две повторности плана после его рандомизации [1].

Результаты и обсуждение

Для каждого лекарственного препарата, содержащего диосмин, были получены 2 блока (массива) данных по величине степени извлечения методом твердо-жидкостной экстракции. Статистические характеристики данных степени извлечения диосмина из лекарственных препаратов представлены в табл. 2. Оценка мер симметричности распределения показала, что наиболее симметричными являются распределения результатов эффективности экстракции для лекарственных препаратов Детралекс 1000 мг и Флебавен 1000 мг, значения коэффициентов асимметрии равны 0,08 и 0,05 соответственно. Отрицательные значения эксцесса для всех лекарственных препаратов свидетельствуют о «закругленности» графиков распределения полученных величин.

Уровень значимости критерия Колмогорова – Смирнова $p > 0,2$ подтверждает возможность аппроксимации полученных распределений законом нормального распределения.

На рис. 1 представлены средства визуальной оценки соответствия распределения массива данных эффективности экстракции диосмина закону нормального распределения на примере лекарственного препарата Детралекс 1000 мг. Гистограмма распределения адекватно описана кривой нормального распределения Гаусса, диаграмма разброса данных (медиана с интервалами нижнего и верхнего квартилей) симметрична.

В табл. 3 приведен ряд параметров, используемых для проверки достоверности моделей регрессии для описывающих экстракцию диосмина из лекарственных препаратов.

Математическая модель, описывающая зависимость ключевого параметра оптимизации от значений влияющих факторов, приведена в виде функции $\omega = f(X_1, X_2, X_3, X_4, X_5)$. Для проверки уравнения регрессии рассчитаны коэффициенты множественной корреляции (r), их значения варьировались в пределах 0,8–0,9, что говорит о сильной связи между показателем эффективности экстракции диосмина и набором факторных показателей (рассматриваемых параметров твердо-жидкостной экстракции). Для того чтобы оценить, какая часть вариации результативного показателя связана с вариацией факторных показателей, необходим коэффициент детерминации (r^2). Данный коэффициент принимает значения от 0 до 1, и чем ближе значение коэффициента к 1, тем сильнее зависимость, причем при $r^2 > 0,5$ математическую модель следует считать приемлемой.

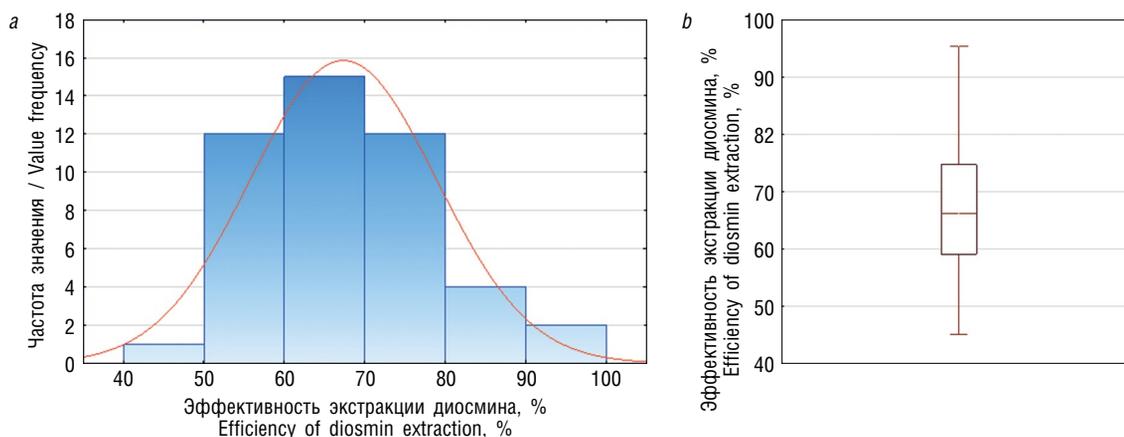


Рис. 1. Гистограмма распределения (а), диаграмма разброса данных эффективности экстракции диосмина (б) на примере лекарственного препарата Детралекс, 1000 мг

Fig. 1. Categorized histogram (a), histogram of variability of the efficiency of diosmin extraction (b) from drugs through the example of tablets Detralelex®, 1000 mg

Статистическую надежность множественной регрессии оценивали с помощью критерия Фишера (F), который проверяет нулевую гипотезу о статистической незначимости параметров регрессионных уравнений. Для этого сравнивали фактические значения F -критерия с табличными ($F_{\text{табл}}$) по заданному уровню значимости и числу степеней свободы. Для нашего исследования $F_{\text{табл}}$ ($df_1 = 5$ и $df_2 = 40$) имеет значение 2,45. Полученные фактические значения критерия Фишера $F_{\text{факт}}$ находятся в пределах от 17,93 до 46,82.

Таким образом, в проведенном регрессионном анализе для экстракции диосмина все значения $F_{\text{факт}}$ превышают значение $F_{\text{табл}}$. Это значит, что с вероятностью более 95 % принимается гипотеза, что полученные данные не случайны и сформированы под влиянием существенных факторов.

Величина коэффициента детерминации r^2 для анализируемых лекарственных препаратов находится в диапазоне значений от 0,69 до 0,85, что интерпретируется как хорошее соответствие модели экспериментальным

Таблица 3 / Table 3

Статистические параметры для проверки достоверности моделей регрессии экстракции диосмина из лекарственных препаратов

Statistical parameters for validation of regression models of diosmin extraction from drugs (tablets)

| Лекарственный препарат | r | $F_{\text{факт}}$ | r^2 | p | SS |
|------------------------|------|-------------------|-------|-------|------|
| Детралекс | 0,89 | 29,50 | 0,79 | <0,05 | 4,66 |
| | 0,83 | 17,93 | 0,69 | <0,05 | 6,82 |
| Венарус | 0,84 | 18,63 | 0,70 | <0,05 | 4,46 |
| | 0,86 | 22,81 | 0,74 | <0,05 | 4,20 |
| Детравенол | 0,85 | 21,37 | 0,73 | <0,05 | 4,00 |
| | 0,84 | 18,74 | 0,70 | <0,05 | 4,42 |
| Флебавен | 0,92 | 46,82 | 0,85 | <0,05 | 4,83 |
| | 0,92 | 45,44 | 0,85 | <0,05 | 5,17 |
| Флебодиа | 0,87 | 25,56 | 0,76 | <0,05 | 5,91 |
| | 0,85 | 21,33 | 0,73 | <0,05 | 6,37 |
| Флебофа | 0,87 | 25,94 | 0,76 | <0,05 | 5,80 |
| | 0,86 | 23,18 | 0,74 | <0,05 | 5,52 |

Примечание. Объяснение статистических параметров см. в тексте.

Note. For an explanation of the statistical parameters, see the text.

Таблица 4 / Table 4

Коэффициенты уравнений множественной линейной регрессии для экстракции диосмина из лекарственных препаратов
Regression coefficients (multiple linear regression) of diosmin extraction from drugs (tablets)

| Лекарственный препарат | Независимый член уравнения | X_1 | X_2 | X_3 | X_4 | X_5 |
|------------------------|----------------------------|----------|--------|-------|--------|--------|
| Детралекс | 100,74 | -603,17 | -0,14 | 0,47 | 0,0050 | -0,92 |
| | 81,96 | -749,83 | 0,12 | 2,52 | -0,11 | 1,62 |
| Венарус | 103,60 | -761,04 | -0,072 | 1,02 | 0,60 | -0,091 |
| | 108,53 | -754,35 | 0,16 | -0,32 | 0,55 | 0,15 |
| Детравенол | 106,33 | -687,66 | -0,11 | 0,59 | 0,21 | 0,12 |
| | 118,39 | -822,46 | -0,080 | -0,48 | -0,51 | 0,270 |
| Флебавен | 106,58 | -852,01 | 0,19 | -0,32 | 1,15 | -0,62 |
| | 122,24 | -745,40 | 0,034 | -0,34 | -1,69 | -0,11 |
| Флебодиа | 102,95 | -998,76 | 0,066 | 1,12 | -0,10 | 1,61 |
| | 125,96 | -1156,33 | 0,29 | -0,98 | -0,53 | -0,79 |
| Флебофа | 100,41 | -1053,99 | -0,16 | 1,56 | 1,10 | 0,52 |
| | 105,42 | -925,95 | 0,19 | 0,081 | 0,50 | -0,084 |

Примечание. Объяснение параметров X_1 – X_5 см. в табл. 1.

Note. For an explanation of the parameters X_1 – X_5 , see Table 1.

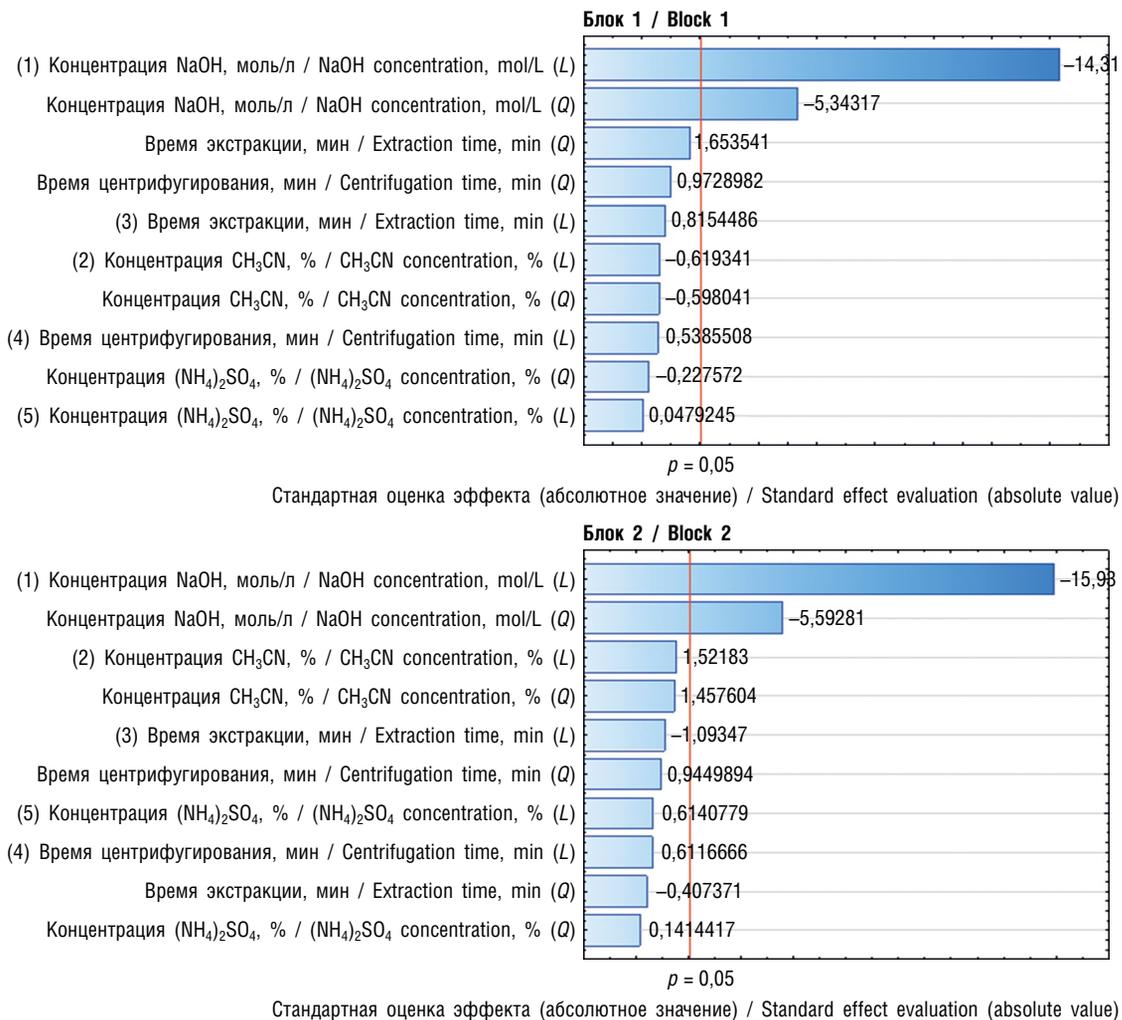


Рис. 2. Карты Парето стандартизованных эффектов для экстракции диосмина на примере лекарственного препарата Венарус, 900 мг (L — линейные эффекты, Q — квадратичные эффекты)

Fig. 2. Pareto charts of the standardized effects of diosmin extraction through the example of Venarus®, 900 mg (L — linear effects, Q — quadratic effects)

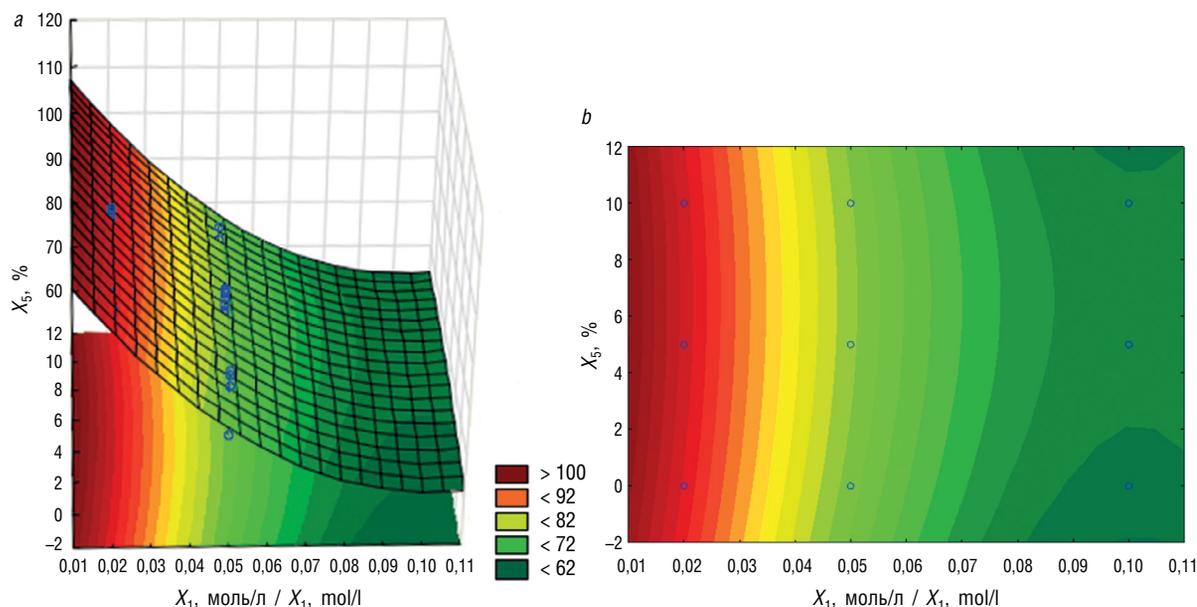


Рис. 3. Поверхность отклика (а) и контурная диаграмма (b) зависимости эффективности экстракции диосмина от факторов X_1 и X_5 (на примере лекарственного препарата Флебифа, 600 мг)

Fig. 3. Response surface (a) and contour diagram (b) of the dependence of diosmin extraction recovery on factors X_1 and X_5 (through the example of Phlebifol[®], 600 mg)

данным и говорит о высокой точности аппроксимации.

Значения выборочной дисперсии (SS) находятся в достаточно узком интервале значений — 4,00–6,82.

На основании данных математических регрессионных моделей (табл. 4.) — набора коэффициентов множественной линейной регрессии для каждого экспериментального блока данных по диосминсодержащим лекарственным препаратам — следует, что при твердо-жидкостной экстракции диосмина из всех лекарственных препаратов влияние большинства исследуемых факторов на его степень извлечения практически отсутствует (или крайне мало). Выраженное влияние на извлечение диосмина проявляет только фактор X_1 — концентрация раствора натрия гидроксида.

Для визуализации изучаемого процесса и представления взаимодействий факторов, определяющих эффективность экстракции диосмина, строили карты Парето для стандартизованных эффектов. На рис. 2 представлены вышеуказанные карты для варианта экстракции диосмина из лекарственного препарата Венарус 900 мг.

Из анализа представленных карт Парето следует, что изменение значения концентрации натрия гидроксида в экстрагенте ведет к значимому влиянию на величину эффективности экстракции диосмина, что подтверждает результаты множественного регрессионного

анализа. Остальные эффекты (факторы экстракции) существенного влияния не оказывают.

Для визуализации математической модели влияния параметров экстракции для изучаемого соединения получали графические изображения в виде поверхностей отклика и контурных диаграмм зависимости эффективности экстракции от выбранных факторов (рис. 3). На диаграмме наглядно продемонстрирована эффективность экстракции в зависимости от уровня влияния факторов.

Из контурной диаграммы следует, что выраженное значение имеет концентрация раствора натрия гидроксида, и с приближением ее значения к 0,02 моль/л растет эффективность экстракции диосмина. Дальнейшее увеличение концентрации натрия гидроксида приводит к снижению степени извлечения диосмина, что связано с более низкой гидрофильностью продуктов его щелочного гидролиза. Другой фактор, например, добавление высаливающего агента аммония сульфата, влияния не оказывает.

Заключение

Таким образом, в результате исследования проведена оценка влияния ряда факторов, определяющих извлечение диосмина из лекарственных препаратов Детралекс 1000 мг, Венарус 900 мг, Детравенол 1000 мг, Флебавен 1000 мг, Флебифа 600 мг, Флебодиа

600 мг. Для каждого лекарственного препарата получены математические модели, описывающие процедуру твердо-жидкостной экстракции. Наиболее значимым фактором, определяющим эффективность экстракции диосмина из лекарственных препаратов (таблетированных лекарственных форм), является концентрация натрия гидроксида. Другие исследуемые факторы (концентрация ацетонитрила, время экстракции, время центрифугирования, добавление электролита аммония сульфата) значимого влияния не оказывают. Оптимальной концентрацией натрия гидроксида в экстрагенте можно считать значение 0,02 моль/л. При этом повышение концентрации выше 0,02 моль/л не приводит к увеличению эффективности экстракции, а, напротив, приводит к ее снижению из-за возможного гидролиза молекулы диосмина.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Дмитриенко С.Г., Апяриа В.В., Горбунова М.В. и др. Гомогенная жидкостная микроэкстракция органических соединений // Журнал аналитической химии. 2020. Т. 75, № 11. С. 963–979. DOI: 10.31857/S0044450220110055
2. Халафян А.А. Статистический анализ данных. Statistica 6.0: учебное пособие. Краснодар, 2005.
3. Azarov A.V., Zhukov N.S., Kozlovtsseva E.Yu., Dobrinsky D.R. Obtaining mathematical models for assessing efficiency of dust collectors using integrated system of analysis and data management STATISTICA Design of Experiments // Journal of Physics. Conference Series. 2018. Vol. 1015. P. 032010. DOI: 10.1088/1742-6596/1015/3/032010
4. Bennani I., Chentoufi M.A., Otmani I.S.E.L. et al. Development and validation of two spectrophotometric methods for simultaneous determination of diosmine and hesperidin in mixture and their applications //

J. App. Pharm. Sci. 2020. Vol. 10, No. 7. P. 100–107. DOI: 10.7324/JAPS.2020.10713

5. Srilatha D., Nasare M., Nagasandhya B. et al. Development and validation of UV spectrophotometric method for simultaneous estimation of hesperidin and diosmin in the pharmaceutical dosage form // ISRN Spectroscopy. 2013. No. 2. P. 1–4. DOI: 10.1155/2013/534830
6. Szeleszczuk Ł., Pisklak D.M., Zielińska-Pisklak M., Wawer I. Spectroscopic and structural studies of the diosmin monohydrate and anhydrous diosmin // Int. J. Pharm. 2017. Vol. 529, No. 1–2. P. 193–199. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.078

References

1. Dmitriyenko SG, Apyaria VV, Gorbunova MV, et al. Homogeneous liquid-liquid microextraction of organic compounds. *Zhurnal analiticheskoy khimii*. 2020;75(11):963–979. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0044450220110055
2. Halafyan AA. Statisticheskij analiz dannyh. Statistica 6.0: uchebnoe posobie. Krasnodar; 2005 (In Russ.)
3. Azarov AV, Zhukov NS, Kozlovtsseva EYu, Dobrinsky DR. Obtaining mathematical models for assessing efficiency of dust collectors using integrated system of analysis and data management STATISTICA Design of Experiments. *Journal of Physics. Conference Series*. 2018;1015:032010. DOI: 10.1088/1742-6596/1015/3/032010
4. Bennani I, Chentoufi MA, Otmani ISEL, et al. Development and validation of two spectrophotometric methods for simultaneous determination of diosmine and hesperidin in mixture and their applications. *J App Pharm Sci*. 2020;10(7):100–107. DOI: 10.7324/JAPS.2020.10713
5. Srilatha D, Nasare M, Nagasandhya B, et al. Development and validation of UV spectrophotometric method for simultaneous estimation of hesperidin and diosmin in the pharmaceutical dosage form. *ISRN Spectroscopy*. 2013;(2):1–4. DOI: 10.1155/2013/534830
6. Szeleszczuk Ł, Pisklak DM, Zielińska-Pisklak M, Wawer I. Spectroscopic and structural studies of the diosmin monohydrate and anhydrous diosmin. *Int J Pharm*. 2017;529(1–2):193–199. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2017.06.078

■ Информация об авторах

Александр Васильевич Воронин — доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой химии Института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru

Александр Вячеславович Карпов — аспирант кафедры химии Института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: karpov.sasha111@gmail.com

■ Information about the authors

Alexander V. Voronin — Doctor of Pharmaceuticals Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Chemistry, Institute of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru

Alexander V. Karpov — Postgraduate student, Department of Chemistry, Institute of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: karpov.sasha111@gmail.com

ПОЛУЧЕНИЕ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ ИЗ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ

М.Н. Качалкин, А.В. Воронин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Качалкин М.Н., Воронин А.В. Получение сорбентов для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 16–22. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.16-22>

Поступила: 16.07.2021

Одобрена: 24.08.2021

Принята: 06.09.2021

Салициловая кислота и ее производные нашли широкое применение в медицине и фармации в качестве жаропонижающих, противоревматических, противовоспалительных и болеутоляющих лекарственных средств для наружного и внутреннего применения. Разработка методик количественного определения салициловой кислоты в многокомпонентных пробах с применением селективных методов пробоподготовки представляется актуальной проблемой в стандартизации лекарственных препаратов. Цель исследования — получение сорбентов на основе этилцеллюлозы для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов. В результате проведенного исследования была предложена методика получения сорбента для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов. Методом инфракрасной спектроскопии показано отсутствие значимых различий структуры этилцеллюлозы и полученных образцов сорбентов на ее основе. Выявлены оптимальные концентрации растворов этилцеллюлозы и салициловой кислоты в реакционной смеси для получения сорбента с максимальным значением сорбционной емкости, которое составляет 93,5 мкг/г сорбента. Предложена методика количественного определения салициловой кислоты в водных растворах с использованием для пробоподготовки сорбента на основе этилцеллюлозы. Проведена метрологическая оценка предложенной методики количественного определения.

Ключевые слова: салициловая кислота; твердофазная экстракция; количественное определение; сорбент.

PREPARATION OF SORBENTS FOR SOLID-PHASE EXTRACTION OF SALICYLIC ACID FROM AQUEOUS SOLUTIONS

M.N. Kachalkin, A.V. Voronin

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Kachalkin MN, Voronin AV. Preparation of sorbents for solid-phase extraction of salicylic acid from aqueous solutions. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):16–22. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.16-22>

Received: 16.07.2021

Revised: 24.08.2021

Accepted: 06.09.2021

Salicylic acid and its derivatives are widely used in medicine and pharmacy as antipyretic, antirheumatic, anti-inflammatory and analgesic drugs for external and internal use. The development of methods for the quantitation of salicylic acid in multicomponent samples using selective methods of sample preparation is an important problem in quality drug control. The aim of the study was to obtain sorbents based on ethyl cellulose for solid-phase extraction of salicylic acid from aqueous solutions. As a result of the study, a method for obtaining a sorbent for solid-phase salicylic acid from aqueous solutions was proposed. The IR spectroscopy of the obtained sorbent samples did not establish significant structural differences between ethylcellulose and the obtained sorbents. Optimal concentrations of ethylcellulose and salicylic acid solutions in the reaction mixture for obtaining the sorbent with a maximum value of sorption capacity of 93.5 µg/g of sorbent were revealed. The method for the quantitation of salicylic acid from aqueous solutions with the use of the obtained sorbent was proposed. Metrological estimation of salicylic acid quantitation with the help of the obtained sorbent for solid-phase extraction was carried out.

Keywords: salicylic acid; solid-phase extraction; quantitation; sorbent.

Введение

Салициловая кислота и ее производные нашли широкое применение в медицине и фармации в качестве жаропонижающих, противоревматических, противовоспалительных и болеутоляющих лекарственных средств для наружного и внутреннего применения, а также как кератолитическое средство в косметологии. Существуют также комбинированные препараты, содержащие салициловую кислоту как один из основных компонентов, такие как Акридерм СК, Белосалик, Дипросалик и др. В связи с этим вопрос о стандартизации данных групп лекарственных и косметических средств считается актуальным.

Известны гитриметрические, электрохимические, хроматографические, спектроско-

метрические способы количественного определения салициловой кислоты в лекарственных и косметических средствах, продуктах питания и других многокомпонентных пробах [4–6]. Основными способами пробоподготовки в данных методах являются: перегонка с водяным паром, центрифугирование и фильтрование, жидкость-жидкостная экстракция [4, 6]. Однако с середины 1990-х годов идет разработка и внедрение как классического варианта твердофазной экстракции (ТФЭ), так и твердофазной микроэкстракции с применением сорбентов различной природы. В литературе также описаны комплексные соединения салициловой кислоты с ионами меди, железа, никеля, которые эффективно используют для ее идентификации и количественного определения [4–6].

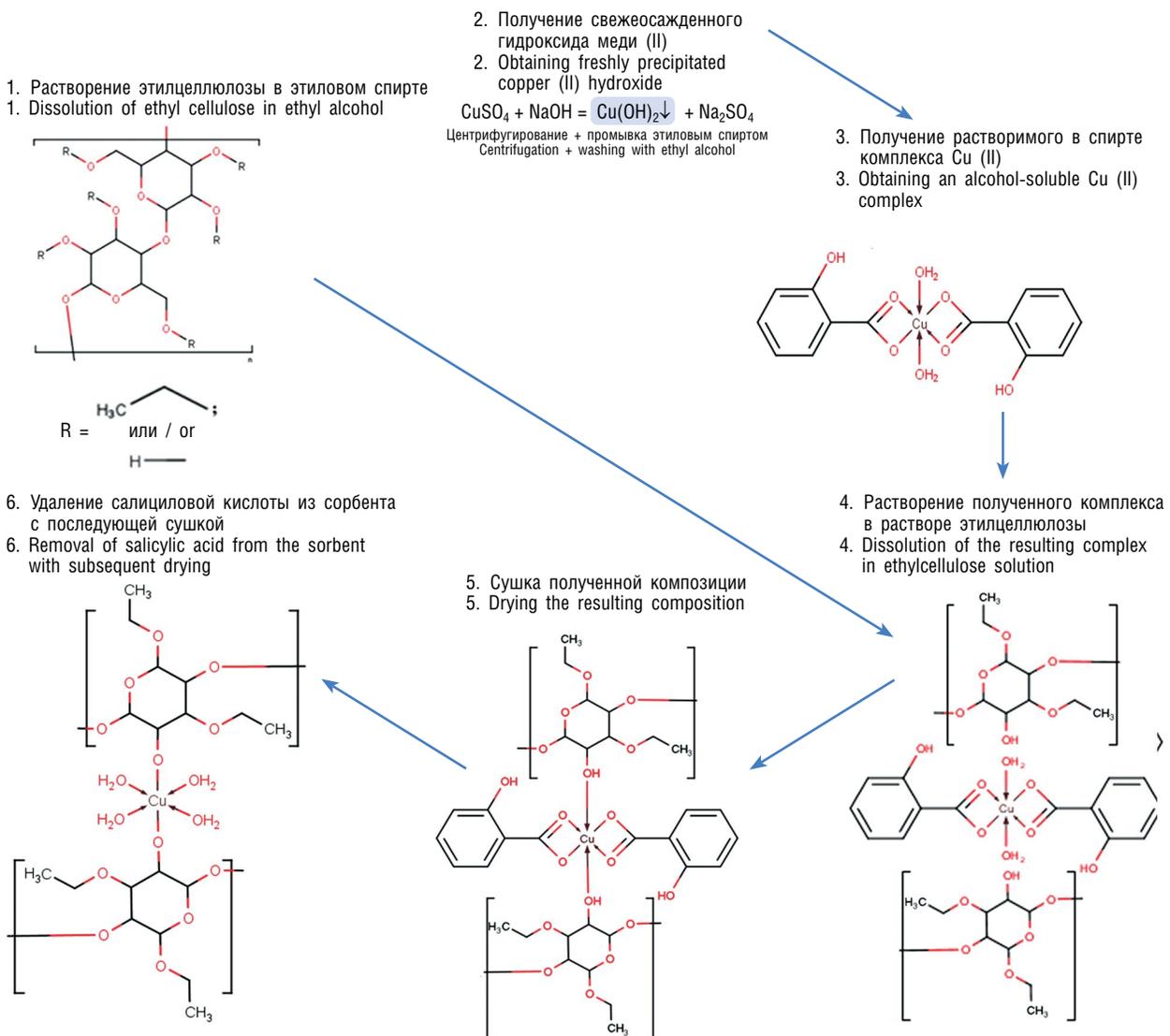


Рис. 1. Схема получения сорбента на основе этилцеллюлозы для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов

Fig. 1. Scheme of obtaining of the ethylcellulose-based sorbent for solid-phase extraction of salicylic acid from aqueous solutions

Применение сорбентов позволяет осуществлять очистку и/или изолирование аналитов различной химической природы, что приводит к повышению уровня селективности, точности и чувствительности инструментальных методов анализа. Особое место в ТФЭ занимают сорбенты на основе производных целлюлозы. Известно использование микрокристаллической, нанокристаллической и молекулярно-импринтированной целлюлозы для получения сорбентов для ТФЭ с целью определения уровня загрязнения некоторых примесей в объектах аналитического контроля [6]. Однако, как правило, из-за высокой гидрофильности основного компонента — целлюлозы — уровень селективности получаемых сорбентов достаточно низкий. Использование некоторых модифицированных видов целлюлозы позволяет решить данную проблему. Например, этилцеллюлоза, ввиду высокого содержания этоксильных групп, обладает меньшим уровнем гидрофильности, чем микрокристаллическая целлюлоза, что упрощает процесс пробоподготовки образцов в полярных растворителях. Нами впервые предложена

методика получения сорбента для ТФЭ салициловой кислоты из водных растворов, заключающаяся в иммобилизации комплекса меди с салициловой кислотой в этилцеллюлозе, с последующей сушкой и удалением салициловой кислоты из пор сорбента (рис. 1).

Цель исследования — получение сорбентов на основе этилцеллюлозы для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов.

Материалы и методы

Для получения сорбента для твердофазной экстракции были использованы следующие реактивы: этилцеллюлоза (степень замещения 48,0–49,5 %, квалификации «BioChemika»; Fluka, Швейцария), меди сульфатпентагидрат (квалификации «х.ч.», АО «Вектон», Россия), натрия гидроксид (квалификации «х.ч.», АО «Вектон», Россия), салициловая кислота (квалификации «х.ч.», АО «Вектон», Россия), вода очищенная, 95 % этиловый спирт.

Сорбенты для твердофазной экстракции были получены следующим образом: точную навеску этилцеллюлозы растворяли в 30 мл 95 % этилового спирта при температуре 70–80 °С (раствор А); 0,2 г меди сульфата пентагидрата растворяли в 30 мл воды очищенной и прибавляли 20 мл 1 % свежеприготовленного раствора гидроксида натрия, полученный осадок отделяли от раствора центрифугированием при 4000 об/мин в течение 5 мин и промывали трижды последовательно 50 мл воды очищенной и 50 мл 95 % этилового спирта; к полученному осадку прибавляли 50 мл раствора салициловой кислоты известной концентрации (табл. 1) в 95 % этиловом спирте и перемешивали при нагревании на водяной бане в течение 15 мин; надосадочную жидкость отделяли центрифугированием при 4000 об/мин в течение 5 мин (раствор Б); 30 мл раствора А и 20 мл раствора Б смешивали при нагревании на водяной бане и высушивали в сушильном шкафу при 40 °С до постоянной массы; далее промывали последовательно 1 % раствором гидроксида натрия и водой очищенной до отрицательной реакции на салициловую кислоту [2]. Дополнительно отсутствие салициловой кислоты подтверждали спектрофотометрически при 230 и 298 нм, раствор сравнения — вода очищенная, толщина оптического слоя 1 см. Затем полученные образцы высушивали при температуре 40 °С до постоянной массы и измельчали до размеров частиц 0,5–1 мм.

Оценку сорбционной емкости полученных сорбентов проводили в динамическом

Таблица 1 / Table 1

Влияние концентраций растворов этилцеллюлозы и салициловой кислоты на выход сорбента
Concentration effect of ethylcellulose solutions and salicylic acid solutions to sorbent productivity

| № образца | Концентрация раствора этилцеллюлозы, % | Концентрация раствора салициловой кислоты, % | Выход, % |
|-----------|--|--|----------|
| 1 | 1,7 | 0,1 | 97,8 |
| 2 | 3,3 | 0,1 | 98,2 |
| 3 | 6,7 | 0,1 | 98,9 |
| 4 | 10,0 | 0,1 | 98,2 |
| 5 | 1,7 | 0,2 | 98,9 |
| 6 | 3,3 | 0,2 | 97,8 |
| 7 | 6,7 | 0,2 | 98,9 |
| 8 | 10,0 | 0,2 | 98,6 |
| 9 | 1,7 | 0,5 | 97,5 |
| 10 | 3,3 | 0,5 | 98,4 |
| 11 | 6,7 | 0,5 | 98,2 |
| 12 | 10,0 | 0,5 | 98,2 |
| 13 | 1,7 | 1,0 | 99,2 |
| 14 | 3,3 | 1,0 | 97,8 |
| 15 | 6,7 | 1,0 | 99,0 |
| 16 | 10,0 | 1,0 | 98,6 |

режиме. В микроколону высотой 10 см и диаметром 1 см помещали 1 г (точная навеска) образцов сорбентов, 10 мл водного раствора салициловой кислоты концентрацией 20 мкг/мл и кондиционировали в течение 5 мин, затем элюировали водой очищенной до отрицательной реакции на салициловую кислоту. Далее колонку промывали 10 мл раствора натрия гидроксида концентрацией 0,1 моль/л, регистрировали оптическую плотность полученного раствора при 298 нм и рассчитывали содержание салициловой кислоты по удельному показателю поглощения ($E_{1\text{ см}}^{1\%} = 259$) [4] (раствор сравнения – раствор натрия гидроксида концентрацией 0,1 моль/л).

Результаты и обсуждение

Полученные образцы сорбентов исследовали методом инфракрасной (ИК) спектроскопии с Фурье-преобразованием на спектрометре Agilent Cary 630 FTIR. ИК-спектры были зарегистрированы в режиме нарушенного полного внутреннего отражения в соответствии с известной методикой в диапазоне волновых чисел от 4000 до 650 см^{-1} [1]. Регистрацию и первичную обработку ИК-спектров, статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного обеспечения Agilent Microlab PC Expert 3.0.0. Полученные результаты ИК-спектроскопии свидетельствуют об идентичности матрицы этилцеллюлозы и полученных образцов сорбентов. На примере ИК-спектра образца сорбента № 10, представленного на рис. 2, видно, что для этилцеллюлозных сорбентов характерны следующие полосы поглощения ν_{max} , см^{-1} : 875 (C—O), 1050 (C—O—C), 1375 (—O—C₂H₅), 1450 (C—H), 2850 (—CH₂—), 2915 (—CH₂—), 2965 (—O—CH₂—CH₃). Также следует отметить, что отсутствует значимое влияние концентраций растворов этилцеллюлозы и салициловой кислоты на выход полимерных сорбентов (см. табл. 1).

Емкость образцов этилцеллюлозных сорбентов по салициловой кислоте находилась в диапазоне значений 44,2–93,5 мкг/г сорбента. Максимальное значение емкости было отмечено для образца сорбента № 10, полученного с использованием в синтезе 3,3 % раствора этилцеллюлозы и 0,5 % раствора салициловой кислоты (рис. 3).

Затем проводили исследование метрологических характеристик модифицированной спектрофотометрической методики количественного определения салициловой кислоты [5] с применением для ТФЭ образца № 10, как сорбента с наибольшим значением емкости.

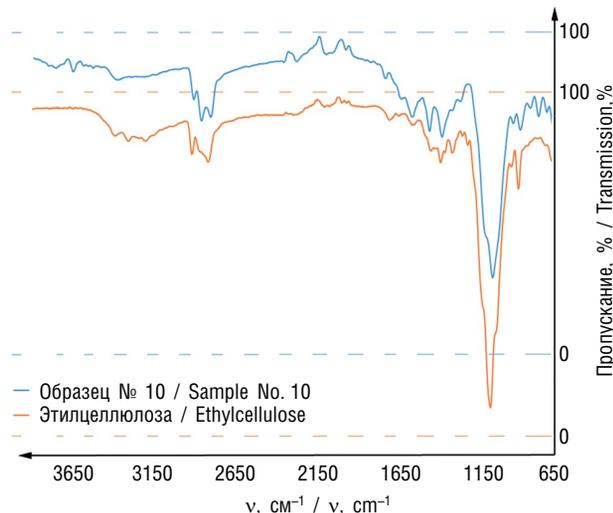


Рис. 2. ИК-спектр стандартного образца этилцеллюлозы и образца сорбента № 10

Fig. 2. IR-spectrum of ethylcellulose reference sample and sorbent sample No. 10

сти. В микроколону высотой 10 см и диаметром 1 см помещали 1 г (точная навеска) образца сорбента № 10, 1 мл пробы, содержащей 20 мкг стандартного образца салициловой кислоты (растворитель – вода очищенная), 5 мл воды очищенной, кондиционировали в течение 5 мин и элюировали 50 мл воды очищенной со скоростью 0,2 мл/мин, отбирали каждые 1 мл элюата и регистрировали оптическую плотность полученного раствора в диапазоне длин волн 200–400 нм (раствор сравнения – вода очищенная). На полученной хроматограмме (зависимости оптической плотности элюата от объема раствора элюента) не зафиксированы пики (рис. 4, а), что доказывает отсутствие салициловой кислоты в элюате при использовании в качестве элюента воды очищенной.

Далее осуществляли элюирование раствором натрия гидроксида концентрацией 0,1 моль/л со скоростью 0,2 мл/мин, отбирали каждые 1 мл элюата, довели объем раствора до 5 мл водой очищенной и регистрировали оптическую плотность полученного раствора в диапазоне длин волн 200–400 нм (раствор сравнения – раствор натрия гидроксида концентрацией 0,1 моль/л). На полученной хроматограмме (рис. 4, б) зарегистрированы два пика поглощения при длинах волн 230 и 298 нм соответственно. Это подтверждает наличие салицилат-иона в первых порциях элюата (до 5 мл). Натрия гидроксид переводит салициловую кислоту в ионизированную форму, которая десорбируется с относительно неполярной этилцеллюлозной матрицы полимера.

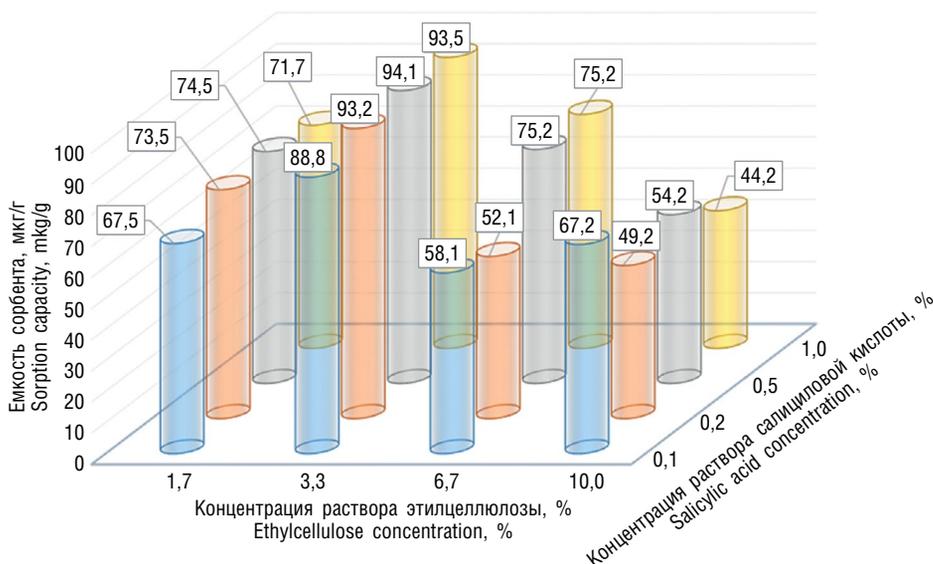


Рис. 3. Распределение сорбционной емкости этилцеллюлозных сорбентов в зависимости от концентрации растворов этилцеллюлозы и салициловой кислоты в реакционной смеси

Fig. 3. Sorption capacity distribution of ethylcellulose sorbents depending on the ethylcellulose concentration and salicylic acid concentration in the reaction mixture

Оценка метрологических характеристик выполнена с помощью программного обеспечения ChemMetr Evaluation 1.0 [3]. Определение систематической погрешности проводили способом «введено-найде-но». Метрологические характеристики полученной методики представлены в табл. 2. Низкий уровень систематической погрешности не более 0,4 % позволяет сделать вывод, что данную методику можно использовать

для количественного определения салициловой кислоты в контроле качества лекарственных средств.

Закключение

В результате проведенного исследования была предложена методика получения сорбента на основе этилцеллюлозы для твердофазной экстракции лекарственного вещества

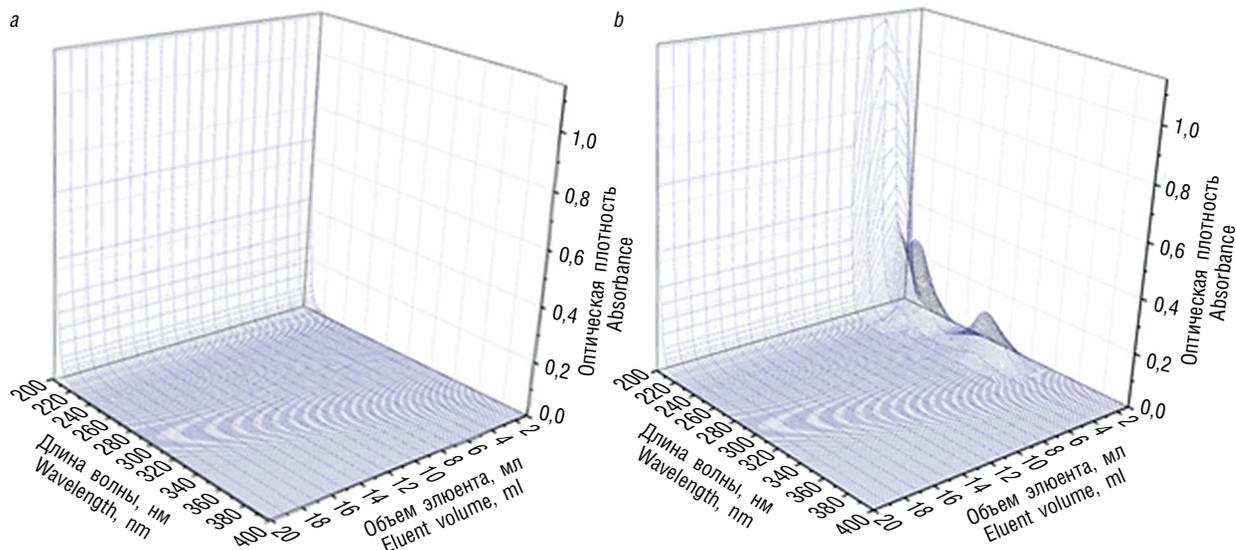


Рис. 4. Хроматограммы стандартного образца салициловой кислоты (водный раствор концентрацией 20 мкг/мл); условия хроматографирования: скорость потока — 0,2 мл/мин, элюенты — вода очищенная (a) и раствор натрия гидроксида концентрацией 0,1 моль/л (b)

Fig. 4. Chromatograms of the salicylic acid reference sample (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ aqueous solution); chromatographic conditions: flow rate 0.2 ml/min, eluents: purified water (a) and 0.1 mol/L sodium hydroxide solution (b)

Таблица 2 / Table 2

Метрологические характеристики методики количественного определения салициловой кислоты методом спектрофотометрии с твердофазной экстракцией на этилцеллюлозном сорбенте

Metrological characteristics of the method for quantitative determination of salicylic acid by spectrophotometry with solid-phase extraction on the ethylcellulose-based sorbent

| μ , мкг | f | \bar{X} , мкг | s^2 | s | P , % | $t(P, f)$ | Δx | ε , % | δ , % |
|-------------|-----|-----------------|-------|-------|---------|-----------|------------|-------------------|--------------|
| 20,00 | 9 | 19,92 | 0,479 | 0,692 | 95,0 | 3,25 | 0,71 | 3,57 | 0,40 |

Примечание. μ — истинное значение содержания салициловой кислоты пробе (принятое опорное значение); \bar{X} — среднее значение содержания салициловой кислоты в пробе, определенное экспериментальным путем; f — число степеней свободы; s^2 — дисперсия; s — стандартное отклонение; P — уровень доверительной вероятности; Δx — полуширина доверительного интервала среднего значения; ε — относительная ошибка (погрешность) единичного определения; δ — относительное отклонение среднего значения содержания салициловой кислоты в пробе от истинного значения содержания (систематическая ошибка).

Note. μ — reference value of the salicylic acid content of the sample (accepted reference value), μg ; \bar{X} — average value of salicylic acid content in the sample, determined experimentally, μg ; f — degrees of freedom; s^2 — dispersion; s — standard deviation; P — confidence level, %; Δx — confidence interval half-width of the average value; ε — relative measurement error, %; δ — accuracy (bias) of value of salicylic acid content in the sample, %.

кислота салициловая из водных растворов. ИК-спектроскопия полученных образцов этилцеллюлозных сорбентов не выявила значимых различий в структуре с этилцеллюлозой. Выявлены оптимальные концентрации растворов этилцеллюлозы и салициловой кислоты в реакционной смеси для получения сорбента со значением емкости по салициловой кислоте 93,5 мкг/г сорбента. Модифицирована методика спектрофотометрического определения салициловой кислоты в водных растворах путем введения стадии твердофазной экстракции с применением полученного этилцеллюлозного сорбента. Проведена метрологическая оценка модифицированной методики количественного определения салициловой кислоты. Таким образом, можно сделать вывод, что полученный сорбент на основе этилцеллюлозы пригоден для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- ОФС.1.2.1.1.0002.15 Спектрометрия в инфракрасной области [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/745/index.html. Дата обращения: 01.07.2021.
- ОФС.1.2.2.0001.15 Общие реакции на подлинность [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/943/index.html. Дата обращения: 01.07.2021.
- Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2019617347/ 06.06.2019. Воронин А.В., Сынбулатов И.В., Качалкин М.Н., Воронин С.В. CHEMMETR EVALUATION 1.0.

- Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, 4th ed. Ed. by A.C. Moffat. London: Pharmaceutical Press, 2011.
- Saeed A.M., Hamzah M.J., Ahmed N.Q. Quantitative assay of aspirin and (salicylic acid and heavy metals as impurities) in iraqi's market aspirin tablets using different analytical methods // *Int. J. App. Pharm.* 2018. Vol. 10, No. 5. P. 167–172. DOI: 10.22159/ijap.2018v10i5.26820
- Суханов П.Т., Савина А.Г., Кушнир А.А., Полуженкова Е.В. Концентрирование и определение бензойной и салициловой кислот в водных средах и продуктах питания // *Аналитика и контроль*. 2018. Т. 22, № 2. С. 92–116. DOI: 10.15826/analitika.2018.22.2.003

References

- OFS.1.2.1.1.0002.15 Spektrometriya v infrakrasnoj oblasti [Internet]. Available from: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/745/index.html. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
- OFS.1.2.2.0001.15 Obshchie reakcii na podlinnost' [Internet]. Available from: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/943/index.html. Accessed: 01.07.2021. (In Russ.)
- Svidetel'stvo o registracii programmy dlya EVM RU 2019617347/ 06.06.2019. Voronin AV, Synbulatov IV, Kachalkin MN, Voronin SV. CHEMMETR EVALUATION 1.0. (In Russ.)
- Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, 4th ed. Ed. by A.C. Moffat. London: Pharmaceutical Press; 2011.
- Saeed AM, Hamzah MJ, Ahmed NQ. Quantitative assay of aspirin and (salicylic acid and heavy metals as impurities) in iraqi's market aspirin tablets using different analytical methods. *Int J App Pharm.* 2018;10(5):167–172. DOI: 10.22159/ijap.2018v10i5.26820
- Sukhanov P, Savvina AG, Kushnir A, Poluzhenkova EV. Benzoic and Salicylic acids concentration and determination in food and water mediums. *Analytics and Control.* 2018;22(2):92–116. (In Russ.). DOI: 10.15826/analitika.2018.22.2.003

■ Информация об авторах

Максим Николаевич Качалкин — ассистент кафедры химии Института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: maxroso@yandex.ru

Александр Васильевич Воронин — доктор фармацевтических наук, доцент, заведующий кафедрой химии Института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru

■ Information about the authors

Maxim N. Kachalkin — Assistant, Department of Chemistry, Institute of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: maxroso@yandex.ru

Alexander V. Voronin — Doctor of Pharmaceuticals Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Chemistry, Institute of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.v.voronin@samsmu.ru

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VITRO* АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ЖИРНЫХ МАСЕЛ

А.Р. Мубинов¹, Е.В. Авдеева¹, В.А. Куркин¹, Г.М. Латыпова², Р.Р. Фархутдинов², В.А. Катаев², Т.К. Рязанова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Уфа, Россия

Как цитировать: Мубинов А.Р., Авдеева Е.В., Куркин В.А., Латыпова Г.М., Фархутдинов Р.Р., Катаев В.А., Рязанова Т.К. Сравнительное исследование *in vitro* антиоксидантной активности некоторых перспективных жирных масел // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 23–29. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.23-29>

Поступила: 20.07.2021

Одобрена: 19.08.2021

Принята: 06.09.2021

В настоящей работе представлены результаты сравнительного изучения антиоксидантной активности *in vitro* перспективных для использования в медицинской практике жирных масел, полученных методом холодного прессования (масло чернушки посевной, или черного тмина, аргании колючей, оливкового масла). В качестве сравнения также использовали масляный раствор альфа-токоферола ацетата. Антиоксидантную активность определяли методом регистрации хемилюминесценции на приборе «ХЛМ-003» в системах, моделирующих процессы выработки активных форм кислорода и перекисного окисления липидов. В результате проведенного исследования выявлена способность большинства образцов жирных масел подавлять генерацию активных форм кислорода и перекисного окисления липидов в модельных системах *in vitro*, что характеризует их антиоксидантные свойства в сравнительном аспекте с препаратом сравнения. Наибольшую антиоксидантную активность проявили образцы жирного масла черного тмина. Были также подобраны оптимальные концентрации жирных масел для каждой модельной системы (1 и 5 мг/мл) и установлен дозозависимый эффект от концентрации масла в системе.

Ключевые слова: чернушка посевная (черный тмин); *Nigella sativa* L.; жирные масла; антиоксидантные свойства; хемилюминесценция.

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SOME PROMISING FATTY OILS: COMPARATIVE STUDY *IN VITRO*

A.R. Mubinov¹, E.V. Avdeeva¹, V.A. Kurkin¹, G.M. Latypova², R.R. Farkhutdinov², V.A. Kataev², T.K. Ryazanova¹

¹ Samara State Medical University, Samara, Russia;

² Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

To cite this article: Mubinov AR, Avdeeva EV, Kurkin VA, Latypova GM, Farkhutdinov RR, Kataev VA, Ryazanova TK. Antioxidant activity of some promising fatty oils: Comparative study *in vitro*. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):23–29. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.23-29>

Received: 20.07.2021

Revised: 19.08.2021

Accepted: 06.09.2021

This paper presents the results of the comparative study of the *in vitro* antioxidant activity of fatty oils obtained by cold-pressing (black cumin, argania prickly, olive oil) which are promising for the use in medical practice. An oil solution of alpha-tocopherol acetate was also used as a comparison. Antioxidant activity was determined by registration of chemiluminescence on the device HLM-003 in systems simulating the production of reactive oxygen species and lipid peroxidation. The study revealed the ability of most samples of the investigated fatty oils to inhibit the generation of reactive oxygen species and lipid peroxidation in model systems *in vitro* which characterized their antioxidant properties in the comparative aspect with the reference preparation. Samples of black

cumin fatty oil showed the greatest antioxidant activity. The optimum fatty oil concentrations for each model system (1 mg/ml and 5 mg/ml) were also selected and the dose-dependent effect on the oil concentration in the system was established.

▪ **Keywords:** black cumin; *Nigella sativa* L.; fatty oils; antioxidant properties; chemiluminescence.

Введение

Проблема поиска новых антиоксидантных препаратов на основе растительного сырья в современной фармацевтической практике по-прежнему считается актуальной. Загрязнение окружающей среды, дисбаланс пищевого рациона и широкий круг патологических процессов стали причинами повышенного образования свободных радикалов в человеческом организме [3]. В норме скорость свободнорадикальных реакций относительно мала, что обусловлено сбалансированной работой системы антиоксидантной защиты организма. Клетки инактивируют активные формы кислорода (АФК) при помощи антиоксидантной защитной системы, однако повышение уровня АФК сверх защитных возможностей клетки может вызвать серьезные нарушения на уровне клетки и организма в целом. Значительное усиление процессов свободнорадикального окисления, связанное с увеличением содержания АФК, называется окислительным стрессом [10]. Свободные радикалы окисляют биологические макромолекулы, такие как ДНК, протеины, липиды, ингибируя их функциональную активность и иницилируя мутации [7]. Доказано, что окислительный стресс — причина развития сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе атеросклероза, гипертонии, а также диабета, онкологических и ряда других заболеваний [11, 13, 14].

Вещства-антиоксиданты играют важную роль в регуляции протекания свободнорадикальных реакций в организме и существенно влияют на его состояние [6]. В многочисленных исследованиях, проведенных как *in vitro*, так и *in vivo*, было показано положительное влияние различных химических классов веществ-антиоксидантов на течение большого числа заболеваний, в том числе инфекционно-воспалительных [1, 2].

Крайне актуальной задачей является корректная оценка антиоксидантных свойств различных соединений, так как при всей вариативности методических подходов стандартизированного метода оценки антиоксидантной активности не существует [9].

К числу перспективных для использования в медицинских целях антиоксидантов природного происхождения, на наш взгляд,

относится жирное масло семян однолетнего травянистого растения чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) из семейства Лютиковых (*Ranunculaceae*). Жирное масло черного тмина содержит различные биологически активные вещества — ненасыщенные жирные кислоты, терпеноиды, витамины, для которых в мировой литературе описаны антиоксидантные, липолитические антибактериальные, желчегонные свойства [4, 5, 12, 15]. Поэтому **целью исследования** стало изучение *in vitro* влияния жирного масла чернушки посевной на процессы свободнорадикального окисления в модельных системах (МС) с использованием экспресс-метода определения антиоксидантной активности, основанного на регистрации хемилюминесценции (ХЛ) в сравнительном аспекте с другими известными и перспективными видами жирных масел (оливковым и аргановым).

Материалы и методы

Объектами сравнительного исследования служили 3 коммерческих образца нерафинированных, полученных методом холодного прессования жирных масел — жирное масло чернушки посевной «Egyptian Black Seed Oil» (Organic for Natural oil, Египет), аргановое масло «Huiled` Argane Cosmetique» (Марокко, регион Эль-Суэйра), оливковое масло высшего качества «Extra Virgin olive oil» (Filippo Berio, Италия).

В качестве образца сравнения использовали масляный раствор альфа-токоферола ацетата (витамин Е) 100 мг/мл фасовкой 50 мл («Марбиофарм», Россия). Год изготовления: 2019, срок годности — 2 года (исследования проведены в пределах срока годности).

Антиоксидантную активность определяли методом регистрации хемилюминесценции на приборе «ХЛМ-003» (Россия) в системах, моделирующих процессы выработки АФК и перекисного окисления липидов (ПОЛ) [8].

В качестве МС, где генерировались АФК, использовали 20 мл фосфатного буфера (20 мМ KH_2PO_4 , 105 мМ KCl) с добавлением раствора люминола (10^{-5} М) и цитрата натрия (50 мМ). Предварительно все исследуемые образцы были растворены в диметилсульфоксиде (ДМСО) из расчета содержания в 1 мл полученного образца 0,2 мл исследуемого

масла. Величину рН полученного раствора МС доводили до 7,45 ед. титрованием насыщенным раствором калия гидроксида. Для иницирования реакций, сопровождающихся образованием АФК, вводили 1 мл 50 мМ раствора солей Fe^{2+} . Регистрация свечения продолжалась в течение 5 мин при постоянном перемешивании. ХЛ МС характеризовалась спонтанным свечением, быстрой вспышкой и развивающейся затем медленной вспышкой. Основными наиболее информативными характеристиками ХЛ служили светосумма свечения, определяющаяся по интенсивности излучения, и амплитуда максимального свечения.

Влияние исследуемых извлечений на ПОЛ изучали в липидах куриного желтка, сходных по составу с липидами крови человека. Липиды получали путем гомогенизации куриного желтка в фосфатном буфере в соотношении 1 : 5 и последующим разбавлением в 20 раз; отбирали 20 мл. Добавление в систему 1 мл 50 мМ раствора солей Fe^{2+} вело к иницированию окисления ненасыщенных жирных кислот, что сопровождалось ХЛ. По интенсивности свечения судили о процессах ПОЛ. Окисление липидов инициировалось введением сернокислого железа, катализирующего окисление ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов, и образование продуктов перекисного окисления. Уровень спонтанного свечения характеризует интенсивность перекисного окисления липидов до введения катализатора; амплитуда быстрой вспышки отражает скорость окисления

ионов Fe^{2+} и образования АФК и гидроперекисей липидов; длительность латентного периода коррелирует с антиокислительной активностью изучаемого образца. Величина светосуммы свечения определяет способность липидов подвергаться окислению.

В качестве контроля служили МС без добавления исследуемых препаратов (в тех же объемах добавляли физиологический раствор), а также с добавлением ДМСО (контроль + ДМСО). Исследуемые образцы масел добавляли в МС в виде растворов в ДМСО. В качестве препарата сравнения использовали масляный раствор альфа-токоферола ацетата. В сериях экспериментов с МС для определения АФК было оптимально подобрано и выбрано добавление по 0,5 мл раствора приготовленных образцов, для МС при определении ПОЛ добавляли по 0,1 мл раствора приготовленных образцов масел (как минимально эффективных и имеющих аналитический эффект концентрации).

Результаты и их обсуждение

Методом регистрации хемилюминесценции было установлено существенное ингибирующее влияние исследуемого образца масла чернушки посевной на кинетику свободнорадикального окисления в системах АФК и ПОЛ. Менее выраженную активность показали образцы арганового и оливкового масел, однако она была большей по отношению к препарату сравнения (альфа-токоферола ацетату).

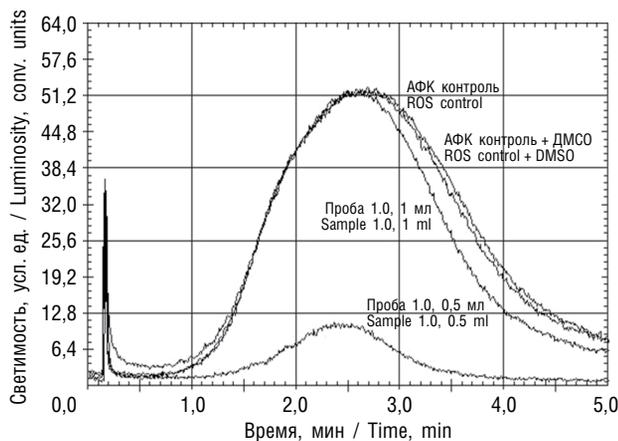


Рис. 1. Влияние масла чернушки посевной на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе активных форм кислорода (АФК). ДМСО — диметилсульфоксид

Fig. 1. Influence of the black cumin oil on free radical oxidation processes in the model ROS system. DMSO — dimethyl sulfoxide

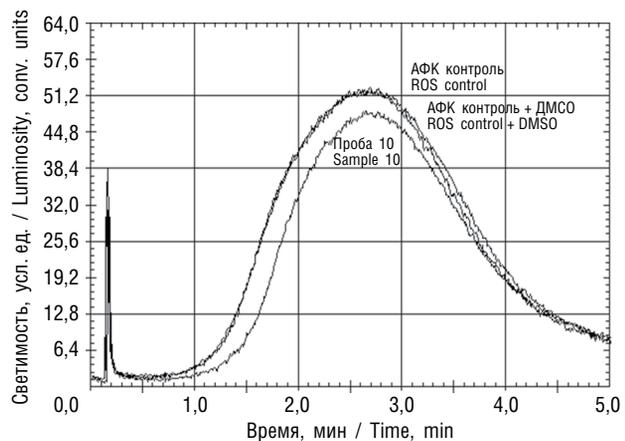


Рис. 2. Влияние оливкового масла на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе активных форм кислорода (АФК). ДМСО — диметилсульфоксид

Fig. 2. Influence of the olive oil on free radical oxidation processes in the model ROS system. DMSO — dimethyl sulfoxide

Таблица 1 / Table 1

Влияние жирных масел на хемилюминесценцию в модельной системе активных форм кислорода
Influence of fatty oils on chemiluminescence in the model ROS system

| Опыт | Объем, мл | Светосумма абсолютная (относительно контроля) | Максимальная светимость, усл. ед. |
|---|------------|---|-----------------------------------|
| Контроль | – | 123 ± 0,2 (102,5 %) | 52 ± 0,2 |
| Контроль + диметилсульфоксид | – | 120 ± 0,1 (100 %) | 51 ± 0,1 |
| Масло черного тмина «Egyptian Black Seed Oil» (Organic for Natural oil, Египет) | 0,1 0,5 | 110 ± 0,2 (91,7 %) 18 ± 0,1 (15 %) | 52 ± 0,2 11 ± 0,1 |
| Аргановое масло «Huiled` Argane Cosmetique» (Марокко, регион Эль-Суэйра) | 0,1 | 95 ± 0,1 (79,1 %) | 47 ± 0,1 |
| Оливковое масло высшего качества «Extra Virgin olive oil» (Filippo Berio, Италия) | 0,1 | 103 ± 0,2 (85,8 %) | 48 ± 0,2 |
| Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата) | 0,5 | 115 ± 0,3 (95,8 %) | 50 ± 0,3 |

При добавлении в модельную систему, где генерировались АФК, образцов масел уменьшалась амплитуда быстрой вспышки, удлинялся латентный период, медленная вспышка начиналась позже и угасала раньше, значение максимальной светимости снижалось. Наиболее характерные высокие показатели определены у образца жирного масла чернушки посевной (рис. 1), гораздо меньшие — у образца оливкового масла (рис. 2).

Показательная характеристика хемилюминесценции — светосумма свечения была меньшей по сравнению с контролем, контроль + ДМСО и препаратом сравнения (альфа-токоферола ацетатом) во всех трех образцах изучаемых масел (табл. 1). Угнетение

ХЛ зависело от концентрации жирных масел в МС: на примере первого образца масла была выбрана оптимальная для данного анализа проба в 0,5 мл раствора (5 мг/мл в МС), а проба в 0,1 мл раствора (1 мг/мл в МС) имела сравнительное значение, так как положительное влияние на уменьшение свободнорадикального окисления было недостаточным. Таким образом, чем больше концентрация масла в МС, тем сильнее подавлялось свечение, что свидетельствовало о дозозависимом эффекте исследуемых образцов жирных масел.

Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата) незначительно удлинял латентный период и уменьшал величину светосуммы ХЛ. Исследуемый образец

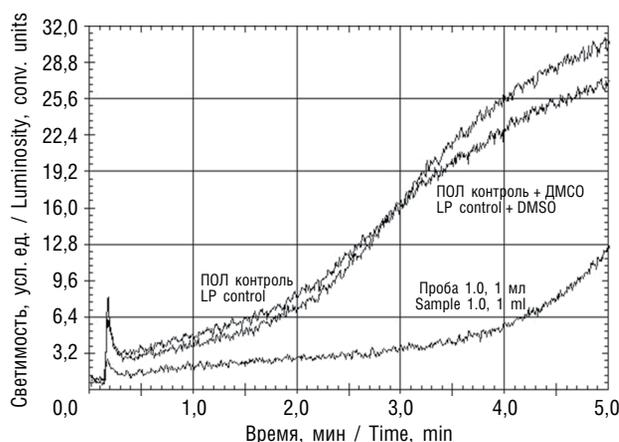


Рис. 3. Влияние масла чернушки посевной на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе перекисного окисления липидов (ПОЛ). ДМСО — диметилсульфоксид

Fig. 3. Influence of the black cumin oil on free radical oxidation processes in the model LP system. DMSO — dimethyl sulfoxide

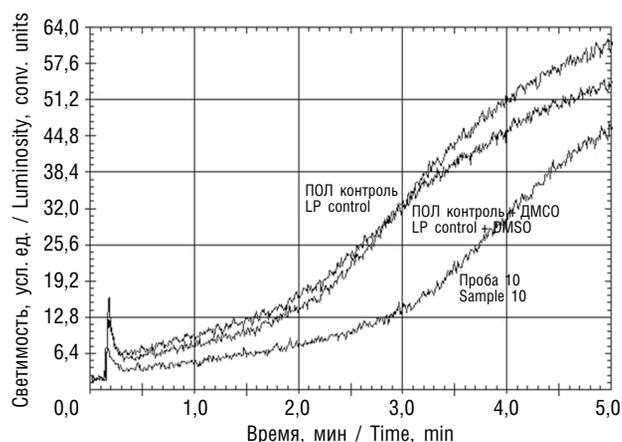


Рис. 4. Влияние оливкового масла на процессы свободнорадикального окисления в модельной системе перекисного окисления липидов (ПОЛ). ДМСО — диметилсульфоксид

Fig. 4. Influence of the olive oil on free radical oxidation processes in the model LP system. DMSO — dimethyl sulfoxide

Таблица 2 / Table 2

Влияние жирных масел на хемилюминесценцию в модельной системе перекисного окисления липидов
Influence of fatty oils on chemiluminescence in the model LP system

| Опыт | Объем, мл | Светосумма абсолютная (относительно контроля) | Максимальная светимость, усл. ед. |
|---|-----------|---|-----------------------------------|
| Контроль | – | 69 ± 0,1 (104,5 %) | 30 ± 0,1 |
| Контроль + диметилсульфоксид | – | 66 ± 0,1 (100 %) | 27 ± 0,2 |
| Масло черного тмина «Egyptian Black Seed Oil» (Organic for Natural oil, Египет) | 0,1 | 19 ± 0,2 (28,8 %) | 12 ± 0,2 |
| | 0,5 | 7,8 ± 0,3 (11,8 %) | 2,7 ± 0,3 |
| Аргановое масло «Huiled` Argane Cosmetique» (Марокко, регион Эль-Суэйра) | 0,5 | 28 ± 0,5 (42,4 %) | 19 ± 0,5 |
| Оливковое масло высшего качества «Extra Virgin olive oil» (Filippo Berio, Италия) | 0,5 | 41 ± 0,3 (62,1 %) | 23 ± 0,3 |
| Препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата) | 0,1 | 33 ± 0,2 (50,0 %) | 20 ± 0,2 |

жирного масла чернушки посевной показал в 6,4 раза бóльшую активность по отношению к препарату сравнения (по уменьшению величины светосуммы ХЛ). Образцы оливкового и арганового жирных масел показали меньшую активность, сравнимую с альфа-токоферола ацетатом.

Для анализа в МС желточных липопротеидов было выбрано оптимальным взятие пробы в 0,1 мл раствора (1 мг/мл в МС), в качестве сравнения — 0,5 мл раствора, или 5 мг/мл в МС (для прослеживания дозозависимого эффекта). Наблюдалось подавление уровня свечения МС, отмечалось более выраженное уменьшение амплитуды быстрой и медленной вспышек, увеличение длительности латентного периода, снижение значений максимальной светимости. Наиболее высокие показатели также были определены у образца жирного масла чернушки посевной (рис. 3), незначительные — у образца оливкового масла (рис. 4).

В МС желточных липопротеидов внесение жирного масла чернушки посевной в наименьшей концентрации (1 мг/мл) уже сопровождалось значительным уменьшением амплитуды быстрой и медленной вспышек, увеличением длительности латентного периода, снижением значения максимальной светимости. В данной МС оливковое масло показало меньшую активность по сравнению с препаратом сравнения, немного выше активность проявило аргановое масло (табл. 2).

Выводы

Таким образом, полученные данные показывают перспективную для использования способность жирных масел подавлять

генерацию АФК и перекисного окисления липидов в модельных системах, что характеризует их антиоксидантные свойства. По величине светосуммы отмечено, что образец масла чернушки посевной в 6,4 раза активнее подавляет процессы свободнорадикального окисления в системе АФК, в 4,2 раза активнее — в системе ПОЛ, чем препарат сравнения (масляный раствор альфа-токоферола ацетата), что позволяет рассматривать жирное масло чернушки посевной для использования в медицинских целях.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Васильев А.Н. Оценка влияния антиоксидантов на специфическую противовирусную активность интерферона альфа-2b человеческого рекомбинантного в отношении вируса простого герпеса в культуре клеток // Антибиотики и химиотерапия. 2010. Т. 55, № 7–8. С. 20–25.
2. Васильев А.Н., Дерябин П.Г., Галегов Г.А. Противовирусная активность антиоксидантов и их комбинаций с интерфероном альфа-2b человеческим рекомбинантным в отношении вируса гриппа птиц А/Н5N1 // Цитокины и воспаление. 2011. Т. 10, № 2. С. 32–37.
3. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. 1998. № 7. С. 43–51.
4. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019.
5. Орловская Т.В., Гаврилин М.В., Челомбитко В.А. Новый взгляд на пищевые растения как перспективные источники лекарственных средств. Пятигорск, 2011.

6. Позднякова Т.А., Бубенчиков Р.А. Изучение антиоксидантной активности травы астрагала солодколистного // Аспирантский вестник Поволжья. 2019. № 1–2. С. 27–32. DOI: 10.17816/2072-2354.2019.19.1.27-32
7. Сайбель О.Л., Даргаева Т.Д., Пупыкина К.А. и др. Оценка антиоксидантной активности травы цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). 2017. Т. 2, № 2(114). С. 85–88. DOI: 10.12737/article_59a614fcd18c42.95236968
8. Фархутдинов Р.Р. Тевдорадзе С.И. Методики исследования хемилюминесценции биологического материала на хемилюминометре ХЛ-003 // Методы оценки антиоксидантной активности биологически активных веществ лечебного и профилактического назначения: сборник докладов / под ред. Е.Б. Бураковой. М., 2005. С. 147–154.
9. Хасанов В.В., Рыжова Г.Л., Мальцева Е.В. Методы исследования антиоксидантов // Химия растительного сырья. 2004. № 3. С. 63–75.
10. Черенкевич С.Н., Мартинович Г.Г., Мартинович И.В. и др. Редокс-регуляция клеточной активности: концепции и механизмы // Известия Национальной академии Беларуси. Серия биологических наук. 2013. № 1. С. 92–108.
11. Chikezie P., Ojiako O., Ogbuji A. Oxidative stress in diabetes mellitus // Int. J. Biol. Chem. 2015. Vol. 9, No. 3. P. 92–109. DOI: 10.3923/ijbc.2015.92.109
12. Gharby S., Harhar H., Guillaume D. et al. Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco // J. Saudi Soc. Agric. Sci. 2015. Vol. 14, No. 2. P. 172–177. DOI: 10.1016/j.jssas.2013.12.001
13. Kattoor A.J., Pothineni N.V.K., Palagiri D., Mehta J.L. Oxidative stress in atherosclerosis // Curr. Atheroscler. Rep. 2017. Vol. 19, No. 11. P. 32–42. DOI: 10.1007/s11883-017-0678-6
14. Rodrigo R., González J., Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension // Hypertens. Res. 2011. Vol. 34, No. 4. P. 431–440. DOI: 10.1038/hr.2010.264
15. Telci I., Sahin-Yaglioglu A., Eser F. et al. Comparison of seed oil composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena* L. During seed maturation stages // J. Am. Oil. Chem. Soc. 2014. Vol. 91, No. 10. P. 1723–1729. DOI: 10.1007/s11746-014-2513-3
- human recombinant interferon alpha-2b against the influenza A/H5N1 virus. *Cytokines and Inflammation*. 2011;10(2):32–37. (In Russ.)
3. Vladimirov YuA. Svobodnye radikaly i antioksidanty. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 1998;(7):43–51. (In Russ.)
4. Kurkin VA. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmaceuticheskikh vuzov. 4th ed. Samara; 2019. (In Russ.)
5. Orlovskaya TV, Gavrilin MV, Chelombit'ko VA. Novyy vzglyad na pishchevye rasteniya kak perspektivnyye istochniki lekarstvennykh sredstv. Pyatigorsk; 2011. (In Russ.)
6. Pozdnyakova TA, Bubenchikov RA. The study of antioxidant activity of the herb astragalus glycyphyllus L. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2019;(1–2):27–32. (In Russ.). DOI: 10.17816/2072-2354.2019.19.1.27-32
7. Saybel OL, Dargaeva TD, Pupykina KA, et al. Ocenka antioksidantnoj aktivnosti travy cikoriya obyknovennogo (*Cichorium intybus* L.). *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. 2017;2(2(114)):85–88. (In Russ.). DOI: 10.12737/article_59a614fcd18c42.95236968
8. Farkhutdinov RR, Tevdoradze SI. Metodiki issledovaniya khemilyuminestsentsii biologicheskogo materiala na khemilyuminometre KhL-003. Metody otsenki antioksidantnoy aktivnosti biologicheskikh aktivnykh veshchestv lechebnogo i profilakticheskogo naznacheniya: sbornik dokladov. Ed. by E.B. Burlakova. Moscow; 2005. P. 147–154. (In Russ.)
9. Khasanov VV, Ryzhova GL, Mal'tseva EV. Metody issledovaniya antioksidantov. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2004;(3):63–75. (In Russ.)
10. Cherenkevich SN, Martinovich GG, Martinovich IV, et al. Redox regulation of cellular activity: concepts and mechanisms. *Izvestiya Natsional'noy akademii Belarusi. Seriya biologicheskikh nauk*. 2013;(1):92–108. (In Russ.)
11. Chikezie P, Ojiako O, Ogbuji A. Oxidative stress in diabetes mellitus. *Int J Biol Chem*. 2015;9(3):92–109. DOI: 10.3923/ijbc.2015.92.109
12. Gharby S, Harhar H, Guillaume D, et al. Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco. *J Saudi Soc Agric Sci*. 2015;14(2):172–177. DOI: 10.1016/j.jssas.2013.12.001
13. Kattoor AJ, Pothineni NVK, Palagiri D, Mehta JL. Oxidative stress in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2017;19(11):32–42. DOI: 10.1007/s11883-017-0678-6
14. Rodrigo R, González J, Paoletto F. The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension. *Hypertens Res*. 2011;34(4):431–440. DOI: 10.1038/hr.2010.264
15. Telci I, Sahin-Yaglioglu A, Eser F, et al. Comparison of seed oil composition of *Nigella sativa* L. and *N. damascena* L. During seed maturation stages. *J Am Oil Chem Soc*. 2014;91(10):1723–1729. DOI: 10.1007/s11746-014-2513-3

References

1. Vasilyev AN. Antioxidant impact on specific antiviral activity of human recombinant interferon α -2b with respect to herpes simplex in cell culture. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2010;55(7–8):20–25. (In Russ.)
2. Vasil'ev AN, Deryabin PG, Galegov GA. Antiviral activity of antioxidants and their combination with

▪ Информация об авторах

Артур Рустемович Мубинов — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: mubinov.arthur@gmail.com

Елена Владимировна Авдеева — доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: e.v.avdeeva@samsmu.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Гузель Минуллоевна Латыпова — доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармации ИДПО. ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия. E-mail: 79177525174@yandex.ru

Рафагат Равильевич Фархутдинов — доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории. ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия. E-mail: farkhutdinov@mail.ru

Валерий Алексеевич Катаев — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармации ИДПО. ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, Россия. E-mail: centreles@mail.ru

Татьяна Константиновна Рязанова — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

▪ Information about the authors

Artur R. Mubinov — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: mubinov.arthur@gmail.com

Elena V. Avdeeva — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: e.v.avdeeva@samsmu.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Guzel M. Latypova — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Department of Pharmacy. Bashkir State Medical University, Ufa, Russia. E-mail: 79177525174@yandex.ru

Rafagat R. Farkhutdinov — Doctor of Medical Sciences, Senior Researcher, Central Research Laboratory. Bashkir State Medical University, Ufa, Russia. E-mail: farkhutdinov@mail.ru

Valerij A. Kataev — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacy. Bashkir State Medical University, Ufa, Russia. E-mail: centreles@mail.ru

Tatyana K. Ryazanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ КОРНЕЙ СОЛОДКИ

О.А. Белова, В.А. Куркин, Т.К. Рязанова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Белова О.А., Куркин В.А., Рязанова Т.К. Актуальные вопросы стандартизации корней солодки // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 30–35. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.30-35>

Поступила: 18.08.2021

Одобрена: 31.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ **Обоснование.** Лекарственное растительное сырье «Солодки корни» содержит в своем составе целый комплекс биологически активных соединений (тритерпеновые сапонины, флавоноиды и др.) и широко применяется в медицинской практике в качестве сырья для получения противовоспалительных, отхаркивающих средств. В то же время, несмотря на широкое применение в медицине и изученность химического состава, остаются актуальными проблемы в области стандартизации корней солодки. Действующая фармакопейная методика определения количественного содержания глицирризиновой кислоты многостадийна: предусматривает экстракцию азотной кислоты 3 % ацетоновым раствором, добавление концентрированного раствора аммиака до образования осадка (аммониевой соли глицирризиновой кислоты), его фильтрование и растворение в воде с последующим спектрофотометрическим анализом. Известны другие методики определения содержания этого биологически активного соединения с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. При анализе известных решений в научной литературе не было обнаружено результатов исследований по количественной оценке глицирризиновой кислоты этим методом в изократическом режиме элюирования.

Цель — разработка методики определения количественного содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в изократическом режиме элюирования.

Материалы и методы. Объектами исследования стали корни солодки голой, заготовленные в 2018 г. в Ботаническом саду Самарского университета, коммерческие образцы растительного сырья, государственные стандартные образцы монозамещенной аммониевой соли глицирризиновой кислоты (глицирам, ФС 42-0034-00) и рабочий стандартный образец глицирризиновой кислоты. Для анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии использовали хроматограф «Милихром-6».

Результаты. В результате проведенных исследований разработана методика определения количественного содержания глицирризиновой кислоты методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (258 нм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 40 : 60, скорость элюирования — 100 мкл/мин. Подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент — 40 % этанол, экстракция в течение 60 мин при соотношении сырье/экстрагент 1 : 30. Валидационный анализ показал, что разработанные методики характеризуются удовлетворительными метрологическими показателями.

Заключение. Полученные результаты могут быть использованы при обновлении фармакопейной статьи «Солодки корни».

■ **Ключевые слова:** солодка голая; солодка уральская; *Glycyrrhiza glabra* L.; корни; глицирризиновая кислота; высокоэффективная жидкостная хроматография.

STANDARDIZATION OF LICORICE ROOTS: CURRENT ISSUES

O.A. Belova, V.A. Kurkin, T.K. Ryazanova

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Belova OA, Kurkin VA, Ryazanova TK. Standardization of licorice roots: Current issues. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):30–35. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.30-35>

Received: 18.08.2021

Revised: 31.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ **BACKGROUND:** Medicinal plant raw material “Licorice roots” contains a whole complex of biologically active compounds (triterpene saponins, flavonoids, etc.) and is widely used in medicine as raw materials for the production of anti-inflammatory and expectorant medications. However, despite its widespread use and well-studied chemical

composition, the problems in the field of standardization of licorice roots remain urgent. The current pharmacopoeial method for determining the quantitative content of glycyrrhizic acid is multi-stage, it consists in the extraction of nitric acid with the use of 3% acetone solution, the addition of the concentrated ammonia solution to form a precipitate (ammonium salt of glycyrrhizic acid), its filtration and dissolution in water, followed by spectrophotometric determination. There are other methods for determining the content of this biologically active compound. They involve high performance liquid chromatography. No results for quantification of glycyrrhizic acid by this method in isocratic elution mode were found in the available scientific literature.

AIM: The aim is to develop the method for determining the quantitative content of glycyrrhizic acid in licorice roots using high performance liquid chromatography in an isocratic elution mode.

MATERIALS AND METHODS: The objects of the study were licorice roots harvested in 2018 in the Botanical Garden of Samara University, commercial samples of plant raw materials, state standard samples of monosubstituted ammonium salt of glycyrrhizic acid (glycyram, PM 42-0034-00) and the work glycyrrhizic acid standard. High performance liquid chromatography analysis was carried out by using a Milichrom-6 chromatograph.

RESULTS: As a result of the investigation, the method for determining the quantitative content of glycyrrhizic acid by reversed-phase high performance liquid chromatography with UV detection (258 nm) was developed. The mobile phase was acetonitrile: 1% acetic acid solution in water in the ratio of 40:60, the elution rate was 100 μ l/min. The optimal extraction conditions were selected: extractant was 40% ethyl alcohol, extraction for 60 minutes at the ratio of "raw material-extractant" was equal to 1:30. Validation analysis showed that the developed methods demonstrated satisfactory metrological indicators.

CONCLUSIONS: The obtained results can be used to update the pharmacopoeial monograph "Licorice roots".

▪ **Keywords:** *Glycyrrhiza glabra* L.; roots; glycyrrhizic acid; high performance liquid chromatography.

Обоснование

Солодка голая (*Glycyrrhiza glabra* L.) и солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) широко применяют в официальной медицине для получения лекарственных препаратов, обладающих обширным спектром фармакологической активности [4–7]. Фармакопейным сырьем для обоих видов растений служат корни [6]. Препараты на основе корней солодки (экстракты густой и сухой, солодки сироп, многокомпонентные растительные сборы, бальзамы, «Грудной эликсир» и др.) применяются в качестве противовоспалительных, отхаркивающих, антигистаминных, иммуномодулирующих, противоэпидемических средств [3].

Основными биологически активными соединениями сырья и препаратов солодки голой и солодки уральской являются тритерпеновые

сапонины (глицирризиновая кислота) и флавоноиды (ликуразид) (рис. 1, 2) [1, 4–7].

В настоящее время качество корней солодки оценивается по содержанию глицирризиновой кислоты, для количественного определения которой в сырье и лекарственных препаратах в России традиционно используют метод спектрофотометрии [2, 6]. В действующей фармакопейной статье «Солодки корни» (ФС.2.5.0040.15) для количественного определения этого биологически активного соединения применяют многостадийную методику, предусматривающую экстракцию сырья азотной кислоты 3 % ацетоновым раствором, добавление к полученному экстракту концентрированного раствора аммиака до появления светло-желтого творожистого осадка, фильтрацию и растворение в воде полученного осадка с последующим спектрофотометрическим определением глицирризиновой

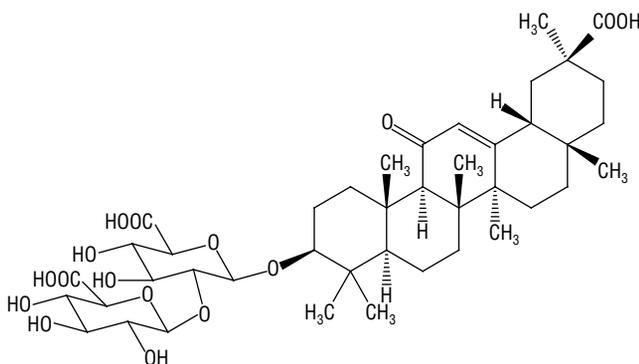


Рис. 1. Структурная формула глицирризиновой кислоты

Fig. 1. Structural formula of glycyrrhizic acid

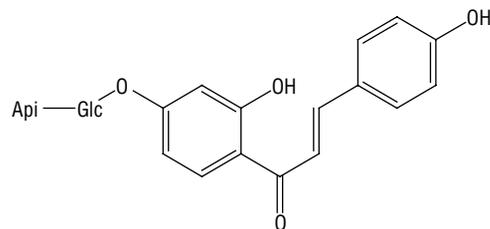


Рис. 2. Структурная формула ликуразида

Fig. 2. Structural formula of licuraside

кислоты при аналитической длине волны 258 нм [2].

В то же время внедрение тонкослойной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), ЯМР-спектроскопии и других методов в область фармации открыло новые возможности для совершенствования стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов. В научной литературе опубликованы нефармакопейные методики определения глицирризиновой кислоты в сырье и препаратах солодки с использованием методов ВЭЖХ, капиллярного электрофореза [8–14]. Известна методика определения этого соединения методом микроколоночной ВЭЖХ. Экстракцию проводят 50 % этанолом в ультразвуковой ванне с последующим хроматографическим разделением с использованием в качестве подвижной фазы градиентной системы [4,1 М LiClO₄ в 0,1 М HClO₄ (элюент А) — ацетонитрил (элюент В); режим элюирования 10–60 % элюента В (0–5 мин)]. Температура колонки 35 °С, скорость подвижной фазы 600 мкл/мин, длина волны детектора 252, 276 и 360 нм [8].

Эти исследования показывают обоснованность и необходимость использования метода ВЭЖХ для анализа глицирризиновой кислоты в сырье и препаратах солодки вместо действующей многостадийной спектрофотометрической методики. В то же время известно, что при градиентном режиме может быть более критичной корректировка условий, и это может привести к некорректной идентификации пиков, их наложению или сдвигам. При анализе известных решений в научной литературе не было обнаружено результатов исследований по количественной оценке глицирризиновой кислоты методом ВЭЖХ в изократическом режиме элюирования.

Цель исследования — разработка методики определения количественного содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки с использованием метода ВЭЖХ в изократическом режиме элюирования.

Материалы и методы

В качестве материала исследования были взяты корни солодки голой, заготовленные в 2018 г. в Ботаническом саду Самарского университета, коммерческие образцы растительного сырья (АО «Красногорсклексредства», ООО «АЛСУ»), государственные стандартные образцы (ГСО) монозамещенной аммониевой соли глицирризиновой кислоты (глицирам, ФС 42-0034-00) и рабочий стандартный образец глицирризиновой кислоты. Использование

в качестве ГСО глицирама обусловлено тем обстоятельством, что глицирризиновая кислота — нестабильное вещество, требующее многоэтапной процедуры очистки, которая в конечном итоге не обеспечивает высокой степени чистоты выделяемого соединения.

ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях обращенно-фазовой хроматографии в изократическом режиме: стальная колонка КАХ-6-80-4 (2×80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 40 : 60, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2000 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 256 нм (соответствует максимуму поглощения глицирризиновой кислоты).

Результаты и обсуждение

В процессе разработки ВЭЖХ-методики был осуществлен подбор системы растворителей (смесь ацетонитрил – 1 % водный раствор уксусной кислоты в различных соотношениях). Результаты подбора системы растворителей показали, что оптимальной системой, в которой наблюдается хорошее разделение веществ как индивидуальных, так и в извлечении, является смесь ацетонитрила и воды в соотношении 40 : 60.

С целью проверки пригодности хроматографической системы проводили 5-кратное хроматографирование 4 мкл раствора извлечения корней солодки. В дальнейшем рассчитывали следующие показатели: эффективность колонки, разрешение между пиками, фактор асимметрии. Полученные значения соответствовали нормативным показателям в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 «Хроматография».

Время удерживания пика, соответствующего глицирризиновой кислоте, на хроматограмме извлечений из исследуемых образцов корней солодки соответствовало временам удерживания пика глицирама на хроматограмме ГСО глицирама и пика глицирризиновой кислоты на хроматограмме рабочего стандартного образца (6,661 ± 0,129, 6,555 ± 0,120 и 6,665 ± 0,140 мин соответственно) (рис. 3, 4).

С использованием метода ВЭЖХ разработана методика количественного определения содержания глицирризиновой кислоты в сырье. Зависимость высоты хроматографического пика от концентрации глицирризиновой кислоты описывалась линейной регрессией в диапазоне концентраций от 184 до 1475 мкг/мл ($r^2 = 0,9994$). Правильность

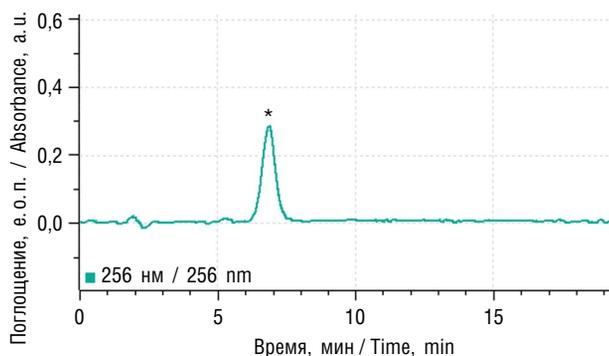


Рис. 3. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма стандартного раствора глицирама: * — глицирам

Fig. 3. High performance liquid chromatogram of glycyrram standard solution: * — glycyrram

методики определяли методом добавок растворов глицирризиновой кислоты с известной концентрацией (80, 100 и 120 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 97,2 %. Ошибки определения глицирризиновой кислоты в пробах с добавками стандартных образцов находи-

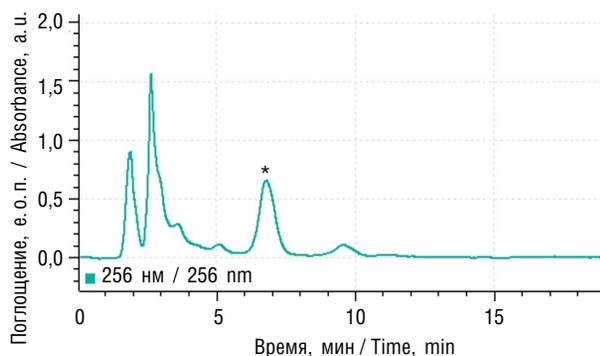


Рис. 4. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма извлечения из корней солодки: * — глицирризиновая кислота

Fig. 4. High performance liquid chromatogram of the extract from licorice roots: * — glycyrrhizic acid

лись в пределах ошибки единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки. Ошибка определения среднего результата содержания глицирризиновой кислоты в корнях солодки с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 4,11$ % (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Метрологические характеристики методики количественного определения глицирризиновой кислоты в корнях солодки
Metrological characteristics of the method for the quantitative determination of glycyrrhizic acid in licorice roots

| f | \bar{X} , % | S | P , % | $t(P, f)$ | $\Delta\bar{X}$ | $\bar{\epsilon}$, % |
|-----|---------------|---------|---------|-----------|-----------------|----------------------|
| 10 | 4,44 | 0,27131 | 95 | 2,23 | $\pm 0,18$ | $\pm 4,11$ |

Таблица 2 / Table 2

Экстракционная способность водно-спиртовых смесей с различной концентрацией этанола
Extraction capacity of water-alcohol mixtures with different concentrations of ethanol

| Экстрагент | Соотношение сырье/экстрагент | Время экстракции, мин | Содержание глицирризиновой кислоты, % |
|-------------|------------------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| 30 % этанол | 1 : 30 | 60 | $3,86 \pm 0,17$ |
| 40 % этанол | 1 : 30 | 60 | $4,50 \pm 0,16$ |
| 60 % этанол | 1 : 30 | 60 | $4,49 \pm 0,17$ |
| 70 % этанол | 1 : 30 | 60 | $4,21 \pm 0,15$ |
| 80 % этанол | 1 : 30 | 60 | $3,48 \pm 0,14$ |

Таблица 3 / Table 3

Содержание глицирризиновой кислоты в образцах сырья солодки
Content of glycyrrhizic acid in the samples of licorice raw materials

| Образец сырья | Содержание глицирризиновой кислоты, % |
|---|---------------------------------------|
| Корни солодки голой (г. Самара, Ботанический сад Самарского университета, август 2018 г.) | $3,44 \pm 0,16$ |
| Солодки корни (АО «Красногорсклексредства», 2018) | $4,00 \pm 0,17$ |
| Солодки корни (АО «Красногорсклексредства», 2019) | $4,49 \pm 0,15$ |
| Солодки корни (биологически активная добавка, серия «Травы Алтай», ООО «АЛСУ») | $4,01 \pm 0,16$ |

Сравнительное изучение экстракционной способности спиртов разных концентраций (30, 40, 60, 70, 80 %) показало, что наиболее высокой экстракционной способностью обладают водно-спиртовые смеси с концентрацией этанола 40 % (табл. 2).

С использованием предлагаемых методик проанализирован ряд образцов лекарственного растительного сырья (табл. 3). Содержание глицирризиновой кислоты (в пересчете на глицирам) в корнях солодки варьировало от 3,44 до 4,51 %.

Заключение

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о возможности стандартизации корней солодки путем определения содержания глицирризиновой кислоты с использованием метода ВЭЖХ в изократическом режиме элюирования.

Разработанная методика определения количественного содержания глицирризиновой кислоты методом обращенно-фазовой ВЭЖХ предусматривает следующие условия: ультрафиолетовое детектирование (258 нм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 40 : 60, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2000 мкл. Валидационный анализ показал, что методика характеризуется удовлетворительными метрологическими показателями.

Подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент — этанол 40 %, экстракция в течение 60 мин при соотношении сырья/экстрагент 1 : 30.

Полученные результаты позволяют рекомендовать 40 % этанол в качестве экстрагента для получения общего извлечения, используемого в дальнейшем при определении количественного содержания глицирризиновой кислоты методом ВЭЖХ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Гаврилин М.В., Сенченко С.П., Тамирян А.М., Печенова А.В. Совершенствование способов оценки качества корней и сиропа солодки // Химия растительного сырья. 2009. № 4. С. 147–150.
2. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018. Т. 4 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Дата обращения: 20.02.2021.
3. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. Режим доступа: [\[grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx\]\(http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx\). Дата обращения: 01.02.2021.](http://

</div>
<div data-bbox=)

4. Егоров М.В. Стандартизация сырья и препаратов солодки: дис. ... канд. фарм. наук. Пермь, 2005.
5. Егоров М.В., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Быков В.А. Качественный и количественный анализ сырья и препаратов солодки // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2005. № 1. С. 175–180.
6. Ермакова В.А., Самылина И.А., Ковалева Т.Ю. и др. Корни солодки: анализ фармакопейных требований // Фармация. 2019. Т. 68, № 6. С. 16–19. DOI: 10.29296/25419218-2019-06-03
7. Куркин В.А., Егоров М.В. Стандартизация корней солодки голой и лекарственного препарата «Солодки экстракт жидкий» // Фундаментальные исследования. 2014. № 6. С. 1232–1236.
8. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Vennos С. Применение микроколоночной ВЭЖХ-УФ для анализа *Glycyrrhiza uralensis* и препаратов солодки // Химико-фармацевтический журнал. 2018. Т. 52, № 12. С. 24–29. DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-12-24-29
9. Павлова Л.В., Платонов И.А., Куркин В.А. и др. Определение глицирризиновой кислоты в корнях солодки методом ВЭЖХ с субкритической экстракцией // Аналитика и контроль. 2018. Т. 22, № 3. С. 229–235. DOI: 10.15826/analitika.2018.22.3.004
10. De A.K., Datta S., Mukherjee A. Quantitative analysis of Glycyrrhizic acid from a polyherbal preparation using liquid chromatographic technique // J. Adv. Pharm. Technol. Res. 2012. Vol. 3, No. 4. P. 210–215. DOI: 10.4103/2231-4040.104711
11. Lauren D.R., Jensen D.J., Douglas J.A., Follett J.M. Efficient method for determining the glycyrrhizin content of fresh and dried roots, and root extracts, of *Glycyrrhiza* species // Phytochem. Anal. 2001. Vol. 12, No. 5. P. 332–335. DOI: 10.1002/pca.597
12. Sabbioni C., Ferranti A., Bugamelli F. et al. Simultaneous HPLC analysis, with isocratic elution, of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in licorice roots and confectionery products // Phytochem. Anal. 2006. Vol. 17, No. 1. P. 25–31. DOI: 10.1002/pca.877
13. Xie J., Zhang Y., Wang W. HPLC analysis of glycyrrhizin and licochalcone a in *Glycyrrhiza inflata* from Xinjiang (China) // Chem. Nat. Compd. 2010. Vol. 46, No. 1. P. 148–151. DOI: 10.1007/s10600-010-9552-2
14. Yongqian Z., Jin C., Yingping W., Xiao S. Simultaneous determination of glycyrrhizin and 15 flavonoids in licorice and blood by high performance liquid chromatography with ultraviolet detector // International Scholarly Research Notices. 2013. Article ID 786151. DOI: 10.1155/2013/786151

References

1. Gavrilin MV, Senchenko SP, Tamiryana AM, Pechenova AV. Sovershenstvovanie sposobov ocenki kachestva kornej i siropa solodki. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2009;(4):147–150. (In Russ.)

2. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV ed. Moscow; 2018. T. 4 [Internet]. Available from: <http://www.femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 20.02.2021. (In Russ.)
3. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv [Internet]. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. Accessed: 01.02.2021. (In Russ.)
4. Egorov MV. Standartizaciya syr'ya i preparatov solodki [dissertstion]. Perm'; 2005. (In Russ.)
5. Egorov MV, Kurkin VA, Zapesochnaya GG, Bykov VA. The qualitative and quantitative analysis of glycyrrhiza drugs and preparations. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2005;(1):175–180. (In Russ.)
6. Ermakova VA, Samylina IA, Kovaleva TYu, et al. Licorice (glycyrrhiza) roots: analysis of the requirements of the pharmacopoeia. *Pharmacy.* 2019;68(6):16–19. (In Russ.). DOI: 10.29296/25419218-2019-06-03
7. Kurkin VA, Egorov MV. Standardization of glycyrrhiza glabra L. roots and pharmaceutical "Glycyrrhizae liquid extract". *Fundamental'nye issledovaniya.* 2014;(6):1232–1236. (In Russ.)
8. Olennikov DN, Zilfikarov IN, Vennos C. Microcolumn hplc-uv analysis of *Glycyrrhiza uralensis* plant material and preparations based on licorice. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal.* 2018;52(12):24–29. (In Russ.). DOI: 10.30906/0023-1134-2018-52-12-24-29
9. Pavlova LV, Platonov IA, Kurkin VA, et al. Determination of glycyrrhizic acid in roots of licorice by HPLC method with subcritical dynamic extraction. *Analytics and Control.* 2018;22(3):229–235. (In Russ.). DOI: 10.15826/analitika.2018.22.3.004
10. De AK, Datta S, Mukherjee A. Quantitative analysis of Glycyrrhizic acid from a polyherbal preparation using liquid chromatographic technique. *J Adv Pharm Technol Res.* 2012;3(4):210–215. DOI: 10.4103/2231-4040.104711
11. Lauren DR, Jensen DJ, Douglas JA, Follett JM. Efficient method for determining the glycyrrhizin content of fresh and dried roots, and root extracts, of Glycyrrhiza species. *Phytochem Anal.* 2001;12(5):332–335. DOI: 10.1002/pca.597
12. Sabbioni C, Ferranti A, Bugamelli F, et al. Simultaneous HPLC analysis, with isocratic elution, of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid in liquorice roots and confectionery products. *Phytochem Anal.* 2006;17(1):25–31. DOI: 10.1002/pca.877
13. Xie J, Zhang Y, Wang W. HPLC analysis of glycyrrhizin and licochalcone a in *Glycyrrhiza inflata* from Xinjiang (China). *Chem Nat Compd.* 2010;46(1):148–151. DOI: 10.1007/s10600-010-9552-2
14. Yongqian Z, Jin C, Yingping W, Xiao S. Simultaneous determination of glycyrrhizin and 15 flavonoids in licorice and blood by high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. *International Scholarly Research Notices.* 2013. Article ID 786151. DOI: 10.1155/2013/786151

▪ Информация об авторах

Ольга Александровна Белова — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: belova_oa@pranapharm.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Татьяна Константиновна Рязанова — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

▪ Information about the authors

Olga A. Belova — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: belova_oa@pranapharm.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Tatyana K. Ryazanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Management and Pharmaceutical Economics. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

ОСОБЕННОСТИ СТАНДАРТИЗАЦИИ НАСТОЙКИ КОРЫ ОРЕХА ЧЕРНОГО

Н.И. Зименкина, В.А. Куркин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Зименкина Н.И., Куркин В.А. Особенности стандартизации настойки коры ореха черного // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 36–47. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.36-47>

Поступила: 11.08.2021

Одобрена: 30.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** Орех черный (*Juglans nigra* L.) — вид деревьев семейства Ореховых (*Juglandaceae*). Данный представитель рода Орех (*Juglans* L.) недостаточно изучен по сравнению с другими видами, в том числе орехом грецким, однако является перспективным видом лекарственного растительного сырья, препараты которого оказывают противомикробное, общеукрепляющее действие. Известная антимикробная и общеукрепляющая активность присутствующих на фармацевтическом рынке препаратов ореха, на наш взгляд, может быть обусловлена веществами флавоноидной природы. Данные сведения свидетельствуют об актуальности изучения флавоноидов коры ореха черного.

Цель настоящего исследования — разработка методик качественного анализа и количественного определения биологически активных соединений для настойки коры ореха черного с использованием спектрофотометрии, тонкослойной хроматографии, микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материалы и методы. Объектом исследования стала настойка коры ореха черного, образцы которой были заготовлены в марте-апреле 2020 г. на территории Ботанического сада Самарского университета, стандартные образцы мирицитрина, мирицетина. Регистрацию ультрафиолетовых спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena). Хроматографический анализ осуществляли методами тонкослойной хроматографии (качественный анализ), обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром-6» (количественный анализ).

Результаты. В результате проведенного хроматографического исследования обнаружено наличие доминирующего флавоноидного вещества — мирицитрина. Данное соединение в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25 : 18 : 2) имеет величину R_f около 0,4. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин (мирицетин-3-О- α -L-рамнопиранозид) в настойке коры ореха черного (*Juglans nigra* L.) с использованием метода дифференциальной спектрофотометрии. Определено, что содержание суммы флавоноидов в настойке коры ореха черного составляет $0,84 \pm 0,07$ % (в пересчете на мирицитрин). Разработана методика количественного определения мирицитрина в настойке коры ореха черного (*Juglans nigra* L.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание доминирующего флавоноида — мирицитрина в настойке коры ореха черного составляет $0,42 \pm 0,06$ %.

Заключение. В результате проведенных исследований разработаны методики качественного анализа и количественного определения флавоноидов для настойки коры ореха черного с помощью современных инструментальных методов анализа (спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография). Полученные результаты могут быть использованы в решении вопросов стандартизации настойки коры ореха черного.

▪ **Ключевые слова:** орех черный; *Juglans nigra* L.; кора; ультрафиолетовая спектрофотометрия; тонкослойная хроматография; высокоэффективная жидкостная хроматография; флавоноиды; мирицитрин.

TINCTURE OF *JUGLANS NIGRA* L. BARK: PECULIARITIES OF STANDARDIZATION

N.I. Zimenkina, V.A. Kurkin

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Zimenkina NI, Kurkin VA. Tincture of *Juglans nigra* L. bark: Peculiarities of standardization. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):36–47. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.36-47>

Received: 11.08.2021

Revised: 30.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** *Juglans nigra* L. is a species of trees in the *Juglandaceae* family. This plant of the genus *Juglans* L. has not been sufficiently studied in comparison with other species, including *Juglans regia* L. It is a perspective medicinal plant raw material, its derivatives have an antimicrobial, general tonic effect. The known antimicrobial and general tonic activity of *Juglans* L. preparations presented on the pharmaceutical market is probably due to substances of a flavonoid nature. These data indicate the relevance of studying the flavonoids of the *Juglans nigra* L. bark.

AIM: The aim of this study is to develop methods for qualitative analysis and quantitative determination of biologically active compounds for tincture of *Juglans nigra* L. bark with the using of spectrophotometry, thin layer chromatography, microcolumn high performance liquid chromatography.

MATERIALS AND METHODS: The object of the study was the tincture of *Juglans nigra* L. bark, samples of which were prepared in March-April 2020 on the territory of the Botanical Garden of Samara University, standard samples of myricitrin, myricetin. UV spectra were recorded with the use of Specord 40 spectrophotometer (Analytik Jena). Chromatographic analysis was carried out by thin-layer chromatography (qualitative analysis), reversed-phase high performance liquid chromatography on a Milikhrom-6 microcolumn liquid chromatograph (quantitative analysis).

RESULTS: As a result of the chromatographic study, myricitrin were revealed, it appeared to be the dominant flavonoid substance. This compound has R_f value of about 0.4 in the solvent system of chloroform-ethanol-water (25:18:2). A method for the quantitative determination of the total flavonoids calculated on myricitrin in tincture of *Juglans nigra* L. bark was developed by means of differential spectrophotometry. It was determined that the content of the total flavonoids calculated on myricitrin in the tincture of *Juglans nigra* L. bark was $0.84 \pm 0.07\%$. A method for the quantitative determination of myricitrin in tincture of *Juglans nigra* L. bark by high performance liquid chromatography was developed. The content of the dominant flavonoid as myricitrin (myricetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside) in the tincture of *Juglans nigra* L. bark was $0.42 \pm 0.06\%$.

CONCLUSIONS: The methods of qualitative analysis and quantitative determination of flavonoids for tincture of *Juglans nigra* L. bark with the use of modern instrumental methods of analysis (spectrophotometry, thin layer chromatography, high performance liquid chromatography) has been developed. These results can be used to standardize the tincture of *Juglans nigra* L. bark.

▪ **Keywords:** black walnut; *Juglans nigra* L.; bark; UV-spectrophotometry; thin layer chromatography; high performance liquid chromatography; flavonoids; myricitrin.

Обоснование

Орех черный (*Juglans nigra* L., сем. Ореховые — *Juglandaceae*) — листопадное дерево, произрастающее на территории Российской Федерации, перспективный вид официального лекарственного растительного сырья (ЛРС). Как представитель рода Орех данный вид ЛРС служит потенциальным источником важного класса биологически активных соединений — нафтохинонов [1–3]. Орех черный содержит также азотистые вещества, тритерпены и фенольные соединения, в том числе флавоноиды, которые могут вносить существенный вклад в основное антимикробное и общеукрепляющее действие ЛРС [6, 7, 11].

Проведенные ранее исследования показали перспективность получения новых лекарственных препаратов на основе коры ореха черного (*Juglans nigra* L.) [6]. Это связано с тем обстоятельством, что для препаратов коры ореха черного характерна не только антимикробная и общеукрепляющая активность, но и противовоспалительное, антиноцицептивное и нейротропное действие [8–10]. Указанные эффекты установлены для флавоноида мирицитрина (мирицетин-3-O- α -L-рамнопиранозид), который является доминирующим и диагностически значимым соединением коры ореха черного. Из этого следует,

что препараты коры ореха черного можно считать перспективными для дальнейшего изучения не только в области фармакологии, но и в плане контроля их качества [4, 5].

В данной работе нами рассматриваются оптимальные подходы к стандартизации настойки коры ореха черного с применением методов тонкослойной хроматографии (ТСХ) для идентификации основных групп биологически активных соединений, ультрафиолетовой (УФ) спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для контроля содержания флавоноидов; установлено содержание суммы флавоноидов (УФ-спектрофотометрия) и мирицитрина (ВЭЖХ).

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали настойку коры ореха черного, образцы которой были заготовлены в марте-апреле 2020 г. на территории Ботанического сада Самарского университета. Указанный лекарственный растительный препарат был использован для качественного (ТСХ) и количественного анализа (УФ-спектрофотометрия и ВЭЖХ). Анализировали настойку коры ореха черного с использованием стандартных образцов (СО) мирицитрина и мирицети-

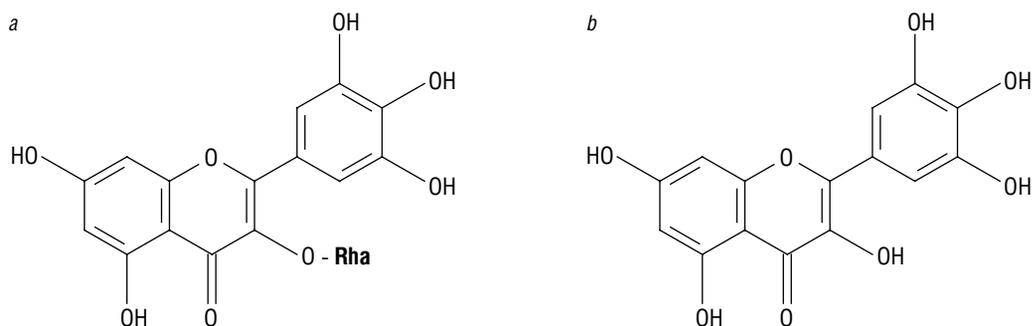


Рис. 1. Структурные формулы мирицитрина (а) и мирицетина (b)

Fig. 1. Structural formulas of myricitrin (a) and myricetin (b)

на (рис. 1) методами ТСХ, УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ.

В работе использовали ацетонитрил (ООО «Компонент-реактив») и воду, полученную с использованием системы для получения воды очищенной с многоступенчатой системой очистки (адсорбция, обратный осмос, мембранное фильтрование) и проверенную на чистоту в условиях хроматографического анализа. Остальные реактивы имели степень чистоты «ч. д. а.» (чистый для анализа) или «х. ч.» (химически чистый).

Тонкослойную хроматографию осуществляли с использованием хроматографических пластинок Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ, капиллярами LactatProfi 3000 наносили 0,02 мл водно-спиртовых извлечений, а также их настойки. Рядом наносили 0,01 мл растворы стандартных образцов мирицитрина (мирицетин-3-О- α -L-рамнопиранозид), мирицетина (3,5,7,3',4',5'-гексагидроксифлавонол). Определение проводили в системе хлороформ – этанол – вода (25 : 18 : 2). Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 60 мин смесью растворителей, и хроматографировали восходящим способом.

Полученную хроматограмму просматривали при дневном свете, в УФ-свете при длине волны 365 нм с помощью ультрафиолетового облучателя УФО-254/365 (ООО «Петролазер», Россия), а также обрабатывали щелочным раствором диазобензолсульфо кислоты и 3 % спиртовым раствором алюминия хлорида ($AlCl_3$).

Для СО мирицитрина спектры ЯМР 1H получали на приборе Bruker AM 300 (300 МГц), спектры ЯМР ^{13}C — на приборе Bruker DRX 500 (126,76 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30. Для СО мирицетина спектры ЯМР 1H получали на приборе JNM-ECX 400 (399,78 МГц), спектры ЯМР ^{13}C — на приборе JNM-ECX 400 (100,52 МГц). Регистрацию УФ-спектров проводили с по-

мощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena). Спектральные характеристики указанных стандартных образцов представлены ниже.

Мирицитрин (мирицетин-3-О- α -L-рамнопиранозид). Желтое с кремовым оттенком кристаллическое вещество с т. пл. 203–205 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 212, 260, 358; +NaOAc 268, 366; +NaOAc + H_3BO_3 260, 382; + $AlCl_3$ 278, 416; + $AlCl_3$ + HCl 270, 406.

Спектр ЯМР 1H (300 МГц, $DMCO-d_6$, δ , м.д.): 12,68 (1H, с, 5-ОН-группа), 9,23 (2H, уш. с, 7-ОН- и 4'-ОН-группы), 6,88 (2H, с, Н-2' и Н-6'), 6,36 (1H, д, $J = 2,5$ Гц, Н-8), 6,19 (1H, д, $J = 2,5$ Гц, Н-6), 5,20 (1H, д, $J = 1,5$ Гц, Н-1'' рамнозы), 3,1–5,0 (м, 4H рамнозы), 0,84 (3H, д, $J = 6$ Гц, CH_3 рамнозы).

Спектр ЯМР ^{13}C (126,76 МГц, $DMCO-d_6$, δ , м.д.): 177,85 (C-4), 164,24 (C-7), 161,37 (C-5), 157,57 (C-4'), 156,49 (C-9), 145,83 (C-2 и C-3), 145,83 (C-3' и C-5'), 119,70 (C-1'), 108,00 (C-2' и C-6'), 104,12 (C-10), 102,00 (C-1'' рамнозы), 98,41 (C-6), 94,30 (C-8), 116,21 (C-2'), 71,03 (C-3''), 70,62 (C-5''), 70,47 (C-4''), 70,08 (C-2''), 17,57 (C-6'', CH_3).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): 465,1016 [$M + H$]⁺, 487,0830 [$M + Na$]⁺, 503,0560 [$M + K$]⁺.

Мирицетин (3,5,7,3',4',5'-гексагидроксифлавонол). Желтовато-зеленое кристаллическое вещество с т. пл. 357 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 254, 377; +NaOAc 275, 382; +NaOAc + H_3BO_3 258, 392; + $AlCl_3$ 266, 440; + $AlCl_3$ + HCl 266, 440.

Спектр ЯМР 1H (399,78 МГц, $DMCO-d_6$, δ , м.д.): 12,45 (1H, с, 5-ОН-группа), 10,73 (1H, с, 7-ОН-группа), 9,28 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9,17 (2H, с, 3'-ОН- и 5'-ОН-группы), 8,75 (1H, с, 3-ОН-группа), 7,20 (2H, с, Н-2' и Н-6'), 6,32 (1H, д, $J = 2,2$ Гц, Н-8), 6,14 (1H, д, $J = 2,2$ Гц, Н-6).

Спектр ЯМР ^{13}C (100,52 МГц, $DMCO-d_6$, δ , м.д.): 176,29 (C-4), 164,39 (C-7), 161,25 (C-5), 156,59 (C-9), 147,36 (C-4'), 146,23 (C-3'

и С-5'), 136,38 (С-2 и С-3), 121,30 (С-1'), 107,68 (С-2' и С-6'), 103,49 (С-10), 93,71 (С-8), 98,67 (С-6).

Исходя из спектральных данных, поскольку доминирующей флавоноид мирицитрин имеет в длинноволновой области электронного спектра максимум поглощения при 360 ± 2 нм, нами была выбрана длина волны 360 нм для детекции анализируемых веществ при проведении ВЭЖХ-анализа.

Приготовление рабочих растворов для анализа методом УФ-спектрофотометрии.

Настойку коры ореха черного получали с помощью 70 % этилового спирта в соотношении сырье/экстрагент 1 : 5 с применением метода дробной мацерации.

Пробоподготовка для настойки коры ореха черного. Около 1 мл настойки коры ореха черного (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 70 % этиловым спиртом (испытуемый раствор А). 1 мл испытуемого раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 2 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор Б). В качестве раствора сравнения использовали раствор, полученный следующим образом: 1 мл испытуемого раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора 96 % этиловым спиртом до метки.

Приготовление стандартного раствора мирицитрина для УФ-спектрофотометрии. Около 0,0025 г (точная навеска) предварительно высушенного мирицитрина (содержание основного вещества ≥ 98 %) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 80 % этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 80 % этиловым спиртом до метки (раствор А мирицитрина). 5 мл раствора А мирицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор Б мирицитрина).

Приготовление рабочих растворов для анализа методом ВЭЖХ.

Пробоподготовка для настойки коры ореха черного. Около 5,00 мл настойки коры ореха черного помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А предварительно фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,45 мкм).

Приготовление стандартного раствора мирицитрина для ВЭЖХ. Около 0,02 г (точная навеска) предварительно высушенного мирицитрина (содержание основного вещества ≥ 98 %) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70 % этаноле и довели объем раствора до метки тем же растворителем.

Приготовление стандартного раствора мирицитина для ВЭЖХ. Около 0,02 г (точная навеска) предварительно высушенного мирицитина (содержание основного вещества ≥ 98 %) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70 % этаноле и довели объем раствора до метки тем же растворителем.

Условия хроматографического разделения. Хроматографический анализ осуществляли методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях: изократический режим, стальная колонка КАХ-6-80-4 (№ 2; 2×80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 2 : 8, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 360 нм. Объемы инжестируемых проб: 4 мкл (настойка, мирицитрин, мирицитин).

Оценка пригодности хроматографической системы. С целью проверки пригодности хроматографической системы проводили 5-кратное хроматографирование 4 мкл испытуемого раствора настойки коры ореха черного. В дальнейшем рассчитывали следующие показатели: эффективность колонки, разрешение между пиками, фактор асимметрии (табл. 1).

Валидационный анализ. Для построения градуировочного графика серию разведения мирицитрина (250–1500 мкг/мл) хроматографировали в описанных условиях. На основании полученных данных строили график в координатах «концентрация, мг/мл — площадь пика» и рассчитывали уравнение линейной регрессии ($Y = aX + b$), значение коэффициента детерминации (r^2), стандартное отклонение с использованием Microsoft Excel 2013. Статистическую обработку экспериментальных данных промежуточной прецизионности разработанной методики при анализе 11 проб образцов испытуемых растворов настойки ($P = 95$ %) проводили с использованием критерия Стьюдента с помощью программ Microsoft Excel с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата

Таблица 1 / Table 1

Определение пригодности хроматографической колонки
Determination of the suitability of a chromatographic column

| Параметр хроматографической колонки | Значение | Нормативный показатель |
|-------------------------------------|----------|-------------------------------------|
| Эффективность колонки | 5115 | Не менее 2000 теоретических тарелок |
| Разрешение между пиками | 1,65 | Не менее 1,5 |
| Фактор асимметрии | 1,35 | Не более 1,5 |

и определением ошибки единичного определения (ГФ XIV, ОФС 1.1.0013.15). Стабильность методики определяли на образце настойки коры ореха черного, анализируя его через 2, 4, 8, 12, 24, 48 и 72 ч после первого анализа. Правильность методики выявляли на образце настойки коры ореха черного с введением в аликвоту образца раствора стандартного образца мирицитрина в количестве от 80 до 120 % исходного содержания.

Результаты исследования и обсуждение.

В результате ТСХ-анализа в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25 : 18 : 2) отмечено, что наиболее информативными являются хроматограммы, просматриваемые при длине волны 365 нм до и после обработки спиртовым раствором алюминия хлорида с дальнейшей обработкой щелочным раствором диазобензолсульфокислоты.

По результатам проводимых хроматографических исследований выявлен ряд особенностей хроматографических профилей изучаемых объектов. При детектировании

хроматографических пластинок с 70 % спиртовыми извлечениями коры ореха черного, а также настойкой соответствующего ЛРС в видимом и УФ-свете при 365 нм наблюдается наличие широкого спектра фенольных соединений различного состава. Заметно преобладание веществ флавоноидной структуры, выявленных в результате усиления окраски после нанесения спиртового раствора $AlCl_3$. Во всех извлечениях и образцах настоек обнаружены зоны адсорбции одного доминирующего соединения флавоноидной природы ярко-желтого цвета в видимом, темно-коричневого цвета в УФ-свете с $R_f \approx 0,4$. Выявленные зоны адсорбции совпадают с зонами адсорбции используемого в качестве стандарта мирицитрина (3-O- α -L-рамнопиранозид мирицитрина). По хроматограммам видно, что мирицитрин во всех указанных видах ЛРС является доминирующим компонентом. Кроме того, в извлечениях и настойках соответствующего ЛРС обнаруживается продукт гидролиза мирицитрина — агликон мирицетин. Также

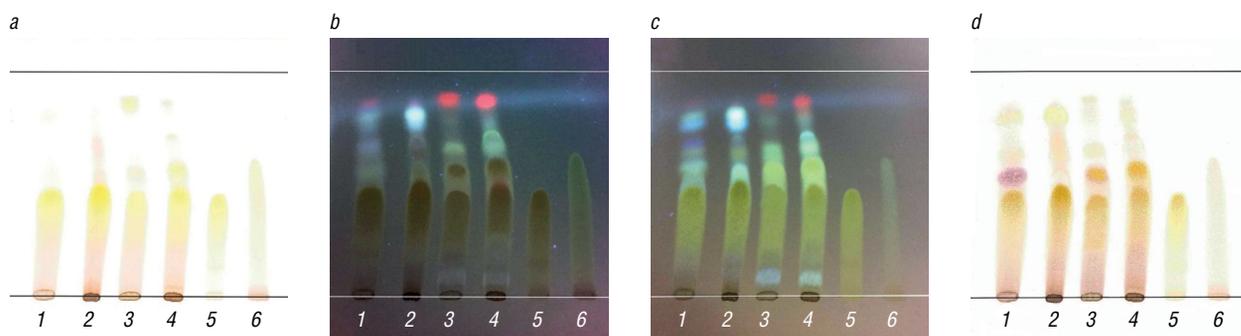


Рис. 2. Тонкослойная хроматограмма анализа водно-спиртовых извлечений коры и листьев ореха черного (*Juglans nigra* L.) в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25 : 18 : 2): *a* — детекция в видимом свете; *b* — детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; *c* — детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки спиртовым раствором хлорида алюминия ($AlCl_3$); *d* — детекция после обработки диазобензолсульфокислотой. 1 — 70 % водно-спиртовое извлечение коры ореха черного; 2 — настойка коры ореха черного; 3 — 70 % водно-спиртовое извлечение листьев ореха черного; 4 — настойка листьев ореха черного; 5 — стандартные образцы мирицитрина; 6 — стандартные образцы мирицетина

Fig. 2. TLC-chromatogram of water-ethanolic extraction from *Juglans nigra* barks and leaves in a solvent system of chloroform-ethanol-water (25:18:2): *a* — detection in visible light; *b* — detection in UV light at the wavelength of 365 nm; *c* — detection in UV light at the wavelength of 365 nm after the processing with an ethanolic solution of aluminum chloride ($AlCl_3$); *d* — detection after the processing with diazobenzenesulfonic acid. 1 — 70% solutions of water-ethanolic extraction of *Juglans nigra* bark; 2 — tincture of *Juglans nigra* bark; 3 — 70% solutions of water-ethanolic extraction of *Juglans nigra* leaves; 4 — tincture of *Juglans nigra* leaves; 5 — myricitrin; 6 — myricetin

в извлечениях обнаружены другие флавоноидные соединения, предположительно, негликозидной структуры (рис. 2).

При сравнительном изучении электронных спектров испытуемых растворов настойки коры ореха черного обнаруживаются характерные для флавоноидов, в частности — флавонолов, 2 максимума поглощения около 260 и 360 нм, что подтверждается батохромным сдвигом длинноволновой полосы в присутствии $AlCl_3$, а также данными дифференциальных спектров с максимумом поглощения 414–416 нм (рис. 3, 4).

Нами было выявлено, что содержащийся в коре ореха черного мирицитрин во многом определяет характер кривой поглощения водно-спиртового извлечения из коры ореха черного, а значит, является диагностически значимым веществом для данного вида сырья. Принимая во внимание тот факт, что максимумы поглощения раствора флавоноида и водно-спиртового извлечения коры ореха черного находятся в области 416 нм (дифференциальный вариант), целесообразно определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин при длине волны 416 нм (рис. 5, 6).

В ходе разработки методик количественного определения для настойки коры ореха черного нами определены оптимальные параметры пробоподготовки, а также аналитическая длина волны для количественного анализа (416 нм).

Методика количественного определения суммы флавоноидов в настойке коры

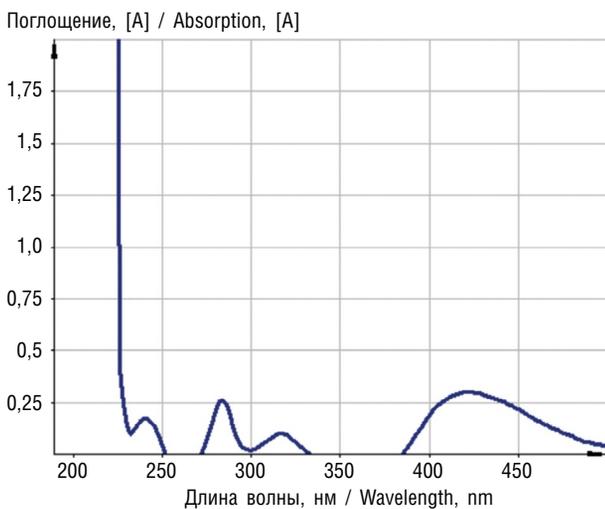


Рис. 4. Электронные спектры испытуемого раствора настойки коры ореха черного (дифференциальный вариант)

Fig. 4. Electronic spectra of the studied solution of the tincture with *Juglans nigra* bark (differential option)

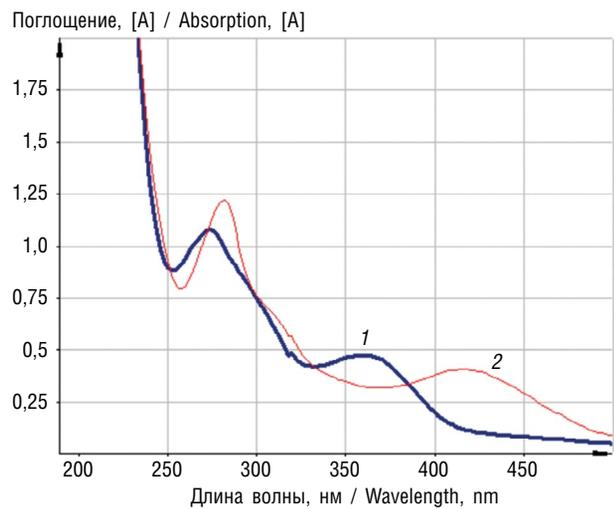


Рис. 3. Электронные спектры испытуемого раствора настойки коры ореха черного: 1 — исходный раствор; 2 — раствор с добавлением алюминия хлорида

Fig. 3. Electronic spectra of the studied solution of the tincture with *Juglans nigra* bark: 1 — initial solution; 2 — solution with the addition of aluminum chloride

ореха черного. 1,00 мл настойки коры ореха черного помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 70 % этиловым спиртом (испытуемый раствор А). 1 мл испытуемого раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 2 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор Б). В качестве раствора

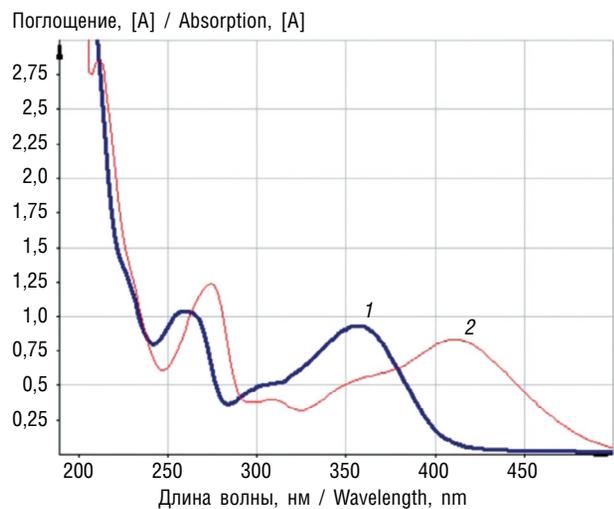


Рис. 5. Электронные спектры спиртовых растворов мирицитрина: 1 — исходный раствор; 2 — раствор с добавлением алюминия хлорида

Fig. 5. Electronic spectra of ethanolic solutions of myricitrin: 1 — initial solution; 2 — solution with the addition of aluminum chloride

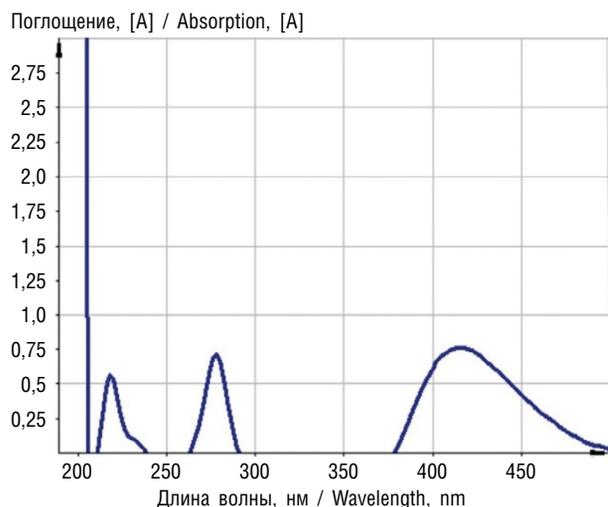


Рис. 6. Электронный спектр раствора мирицитрина (дифференциальный вариант)

Fig. 6. Electronic spectra of ethanolic solution of myricitrin (differential option)

сравнения использовали раствор, полученный следующим образом: 1 мл испытуемого раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора 96 % этиловым спиртом до метки.

П р и м е ч а н и е: *Приготовление раствора выделенного вещества.* Около 0,0025 г (точная навеска) предварительно высушенного мирицитрина (содержание основного вещества $\geq 98\%$) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 15 мл 80 % этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 80 % этиловым спиртом до метки (раствор А мирицитрина). 5 мл раствора А ми-

рицитрина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор Б мирицитрина).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 5 \cdot 100}{D_0 \cdot V \cdot 25 \cdot 1 \cdot 25},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 — оптическая плотность раствора СО мирицитрина; V — объем настойки, взятой для анализа, мл; m_0 — масса СО мирицитрина, г.

В случае отсутствия стандартного образца мирицитрина целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения — 432 при длине волны 416 нм:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 50}{V \cdot 432},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора; V — объем настойки, взятой для анализа, мл; 432 — удельный показатель поглощения ($E_{1\text{ см}}^{1\%}$) мирицитрина при 416 нм.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в настойке ореха черного представлены в табл. 2. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствуют, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в настойке коры ореха черного с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 8,91\%$ (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

Метрологические характеристики методик количественного определения суммы флавоноидов в настойке коры ореха черного

Metrological characteristics of the method of quantitative determination of the total of flavonoids from the tinctura *Juglans nigra* bark

| n | f | \bar{X} | S | $S_{\bar{X}}$ | $P, \%$ | $t(P, f)$ | $\Delta\bar{X}$ | $E, \%$ |
|-----|-----|-----------|---------|---------------|---------|-----------|-----------------|------------|
| 11 | 10 | 0,84 | 0,03357 | 0,01012 | 95 | 2,23 | $\pm 0,07$ | $\pm 8,91$ |

Таблица 3 / Table 3

Содержание суммы флавоноидов в настойке коры ореха черного в зависимости от добавления мирицитрина

The content of the total of flavonoids in the tincture of the *Juglans nigra* bark depending on the addition of myricitrin

| Исходное содержание суммы флавоноидов, мг/г | Добавление мирицитрина, мг/г | Содержание суммы флавоноидов, мг/г | | Ошибка | |
|---|------------------------------|------------------------------------|-----------|----------------|------------------|
| | | расчетное | найденное | абсолютная, мг | относительная, % |
| 5,0 | 1,25 | 6,25 | 6,05 | -0,2 | -3,2 |
| 5,0 | 2,5 | 7,5 | 7,9 | +0,4 | +5,33 |
| 5,0 | 3,75 | 8,75 | 8,45 | -0,3 | -3,43 |

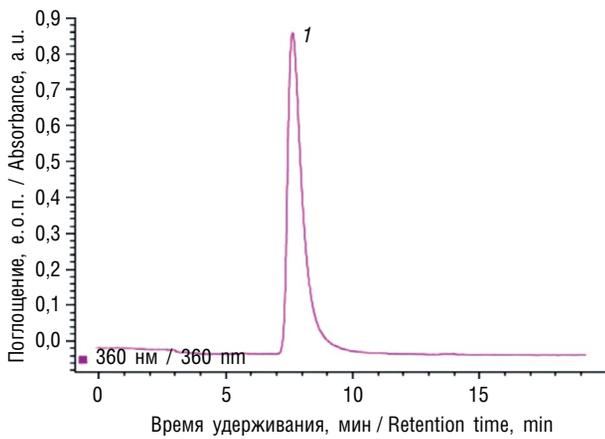


Рис. 7. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма мирицитрина

Fig. 7. High performance liquid chromatogram of myricitrin

Валидационную оценку разработанной методики проводили по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов коры ореха черного и выделенного вещества с алюминием хлоридом. Линейность методики определяли для серии растворов мирицитрина (с концентрациями в диапазоне от 0,00795 до 0,02385 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,99974.

Правильность методики определяли путем добавок раствора доминирующего соединения с известной концентрацией (25, 50 и 75 %) к испытуемому раствору настойки. При этом средний процент восстановления составил 96 %. Опыты с добавками СО мирицитрина к навеске сырья показали, что ошибка анализа находится в пределах ошибки единичного определения, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки разработанной методики (опыты с добавками) (табл. 3).

Содержание суммы флавоноидов, определенное методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 416 нм, в исследуемых образцах настойки коры ореха черного составило $0,84 \pm 0,07$ % (в пересчете на мирицитрин).

При анализе методом ВЭЖХ определено, что в указанных условиях хроматографирования при использовании системы ацетонитрил – вода в соотношении 2 : 8 в испытуемом растворе настойки возможно идентифицировать анализируемый компонент — мирицитрин (рис. 7, 9). Кроме того, выявлено, что в системе ацетонитрил – вода в соотноше-

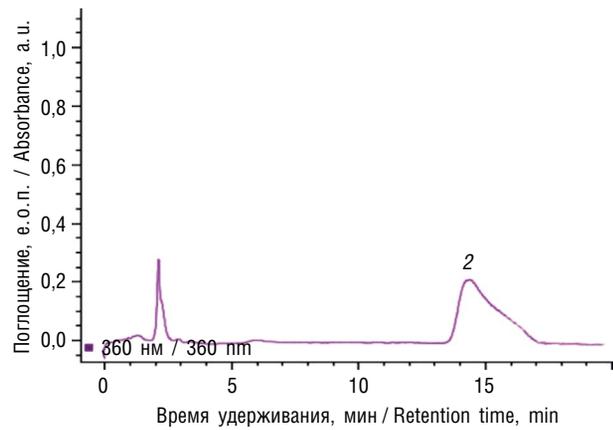


Рис. 8. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма мирицетина

Fig. 8. High performance liquid chromatogram of myricetin

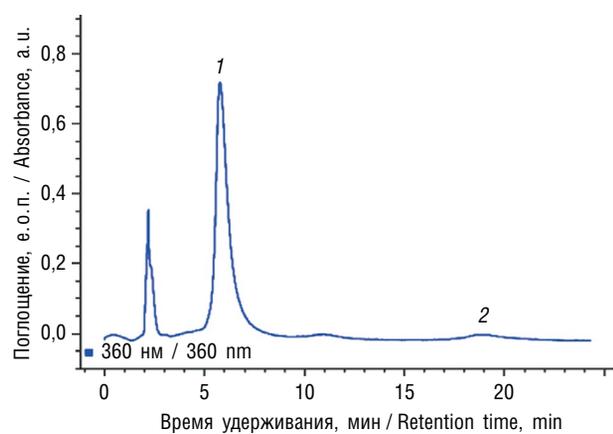


Рис. 9. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма испытуемого раствора настойки коры ореха черного: 1 — мирицитрин; 2 — мирицетин

Fig. 9. High performance liquid chromatogram of test solutions of tincture with *Juglans nigra* bark: 1 — myricitrin; 2 — myricetin

нии 2 : 8 возможно идентифицировать агликон мирицитрина — мирицетин (рис. 8, 9).

Время удерживания пиков мирицитрина и мирицетина на хроматограмме рабочего стандартного образца мирицитрина, а также в испытуемых растворах настойки и сухого экстракта коры ореха черного представлены в табл. 4.

Добавление раствора мирицитрина (1) и мирицетина (2) в испытуемые растворы настойки и сухого экстракта коры ореха черного проявляется на хроматограмме увеличением интенсивности пика мирицитрина и пика мирицетина соответственно по сравнению с таковой флавоноидов 1 и 2 в исходном испытуемом растворе (рис. 10).

Таблица 4 / Table 4

Времена удерживания пиков флавоноидов настойки коры ореха черного
Peaks retention time of the tincture of the *Juglans nigra* bark

| Флавоноид | Время удерживания на хроматограмме, мин | | |
|----------------|---|----------|----------------|
| | стандартный образец | настойка | сухой экстракт |
| Мирицитрин (1) | 7,326 | 6,951 | 6,741 |
| Мирицетин (2) | 14,211 | 18,909 | 17,277 |

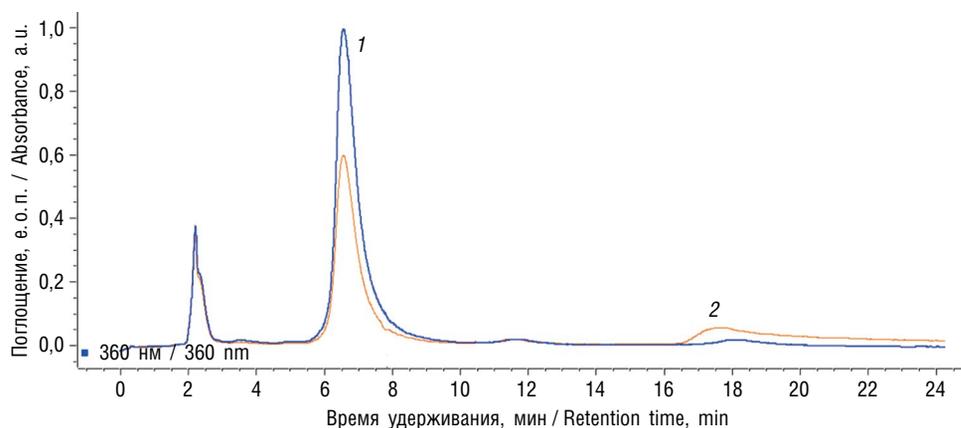


Рис. 10. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма испытуемого раствора настойки коры ореха черного с добавлением мирицитрина (1) и мирицетина (2)

Fig. 10. High performance liquid chromatogram of the studied solution of the tincture of the *Juglans nigra* bark with the addition of myricitrin (1) and myricetin (2)

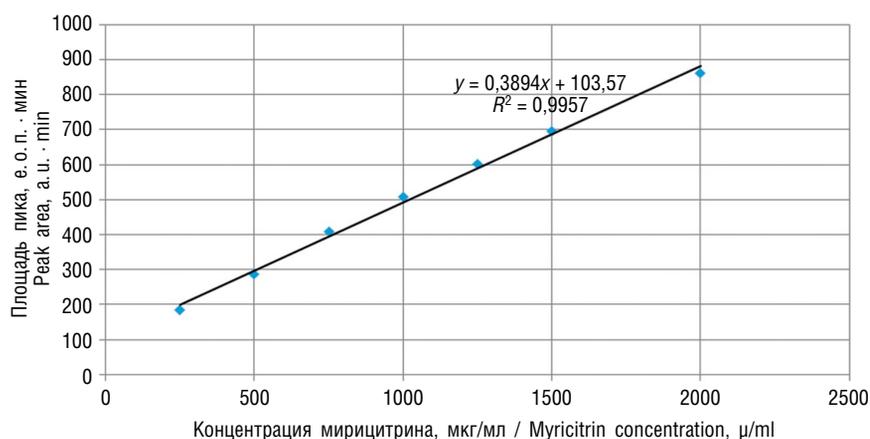


Рис. 11. График зависимости площади пика от концентрации мирицитрина в пробе и уравнение линейной регрессии

Fig. 11. Chart of the dependence of the peak area on the concentration of myricitrin in the sample and the equation of linear regression

Принимая во внимание невысокое содержание мирицетина в извлечении по сравнению с мирицитрином, считаем целесообразным количественный анализ осуществлять только по мирицитрину. Зависимость площади хроматографического пика от концентрации мирицитрина описывалась линейной регрессией в диапазоне концентраций

от 250 до 1500 мкг/мл (рис. 11), предел количественного определения составил 140 мкг/мл. Точность методики количественного определения для настойки коры ореха черного составила 94,72–104,79 % (табл. 5).

Методика количественного определения мирицитрина в настойке коры ореха черного. 5,00 мл настойки коры ореха черного помещают

Таблица 5 / Table 5

Результаты определения правильности методики
Correctness of the technique: determination findings

| Исходное содержание суммы мирицитрина, мг/г | Добавление мирицитрина, мг/г | Содержание мирицитрина, мг/г | | Ошибка | |
|---|------------------------------|------------------------------|-----------|----------------|------------------|
| | | расчетное | найденное | абсолютная, мг | относительная, % |
| 2,40 | 1,90 | 4,30 | 4,14 | -0,16 | -3,72 |
| 2,40 | 2,40 | 4,80 | 4,57 | +0,23 | +4,79 |
| 2,40 | 2,90 | 5,30 | 5,02 | -0,28 | -5,28 |

Таблица 6 / Table 6

Оценка промежуточной прецизионности методики количественного определения мирицитрина в коре ореха черного
Estimation of the intermediate precision of the quantitative determination method (myricitrin in the tincture of the *Juglans nigra* bark)

| Образец | <i>f</i> | \bar{X} | <i>S</i> | <i>P</i> , % | <i>t</i> (<i>P</i> , <i>f</i>) | $\Delta\bar{X}$ | <i>E</i> , % |
|-----------------------------|----------|-----------|----------|--------------|----------------------------------|-----------------|--------------|
| Настойка коры ореха черного | 10 | 0,42 | 0,02834 | 95 | 2,23 | ±0,06 | ±15,04 |

в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Испытуемый раствор А предварительно фильтруют через мембранный фильтр Milipore (0,45 мкм).

В жидкостной хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») с УФ-детектором вводят 4 мкл полученного раствора. Хроматографируют в условиях обращенно-фазовой хроматографии в изократическом режиме на стальной колонке КАХ-6-80-4 (№ 2; 2 × 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система ацетонитрил – вода в соотношении 2 : 8 с добавлением 1 % уксусной кислоты, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2500 мкл. Рабочая длина волны 360 нм, диапазон чувствительности 0,5.

Параллельно 4 мкл СО мирицитрина вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Проводят не менее 3 параллельных определений для испытуемого раствора настойки и стандартного раствора мирицитрина. Указанные пробы вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Идентифицируют пик мирицитрина на хроматограммах испытуемого раствора. Вычисляют среднюю площадь пика мирицитрина на хроматограммах раствора СО мирицитрина и испытуемого раствора по результатам трех определений.

Содержание мирицитрина в настойке коры ореха черного в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (*X*) вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S \cdot m_0 \cdot 0,98 \cdot V \cdot V_2 \cdot 100}{S_0 \cdot V_n \cdot V_0 \cdot V_1},$$

где *S* — среднее значение площади пика мирицитрина на хроматограмме испытуемого раствора; *S*₀ — среднее значение площади пика мирицитрина на хроматограмме стандартного раствора; *V* — объем извлечения, мл; *V*₁ — объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл; *V*₀ — объем раствора СО мирицитрина, мл; *V*₂ — объем вводимой пробы раствора СО мирицитрина, мкл; *V*_н — объем настойки, взятой для анализа, мл; *m*₀ — масса СО мирицитрина, г; 0,98 — содержание основного вещества в СО мирицитрина.

Содержание мирицитрина в настойке коры ореха черного — 0,42 ± 0,06 %. Результаты оценки промежуточной прецизионности разработанной методики при анализе 11 проб образцов из одной серии сырья свидетельствуют об удовлетворительной воспроизводимости результатов анализа. Ошибка единичного определения содержания мирицитрина в настойке коры ореха черного с доверительной вероятностью 95 % составляет ±15,04 % (табл. 6).

Таким образом, результаты проведенных спектральных и хроматографических исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации настойки коры ореха черного путем определения суммы флавоноидов в пересчете на мирицитрин с использованием метода УФ-спектрофотометрии при длине волны 416 нм. Кроме того, обоснована методика количественного определения содержания доминирующего и диагностически значимого флавоноида — мирицитрина с использованием методов ТСХ, ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при длине волны 360 нм.

Выводы

1. С помощью метода ТСХ определены основные группы биологически активных веществ настойки ореха черного, необходимые для идентификации указанного препарата. Определено, что доминирующим флавоноидом настойки коры ореха черного является мирицитрин с величиной $R_f \approx 0,4$.
2. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в настойке коры ореха черного методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием СО мирицитрина при аналитической длине волны 416 нм.
3. Содержание суммы флавоноидов для настойки коры ореха черного составляет $0,84 \pm 0,07$. Ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95 % — $\pm 8,91$ %.
4. Разработана методика количественного определения мирицитрина в настойке коры ореха черного методом ВЭЖХ.
5. Содержание доминирующего флавоноида — мирицитрина (мирицетин-3-О- α -L-рамнопиранозид) в настойке коры ореха черного $0,42 \pm 0,06$ %. Ошибка единичного определения мирицитрина в коре ореха черного с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 15,04$ %.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Беленовская Л.М., Буданцев А.Л. Нафтохиноны видов флоры России и их биологическая активность // Растительные ресурсы. 2006. Т. 42, № 4. С. 108–141.
2. Губанов И.А., Крылова И.Л., Тихонова В.Л. Дикорастущие полезные растения СССР. М.: Мысль, 1976. С. 81–85.
3. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Орех грецкий — перспективное лекарственное растение (обзор литературы) / II Российский фитотерапевтический съезд: сборник научных трудов съезда, 22–23 октября 2010 г.; Москва // Традиционная медицина. 2010. № 3(22). С. 118–123.
4. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н. Спектрофотометрическое определение производных юглона в листьях ореха грецкого // Всероссийская научно-практическая конференция «Современная фармацевтическая наука и практика: традиции, инновации, приоритеты»; 24–26 мая 2011 г.; Самара. 2011. С. 113–114.
5. Дайронас Ж.В., Зилфикаров И.Н., Корочинский А.В., Корочинская В.В. Определение нафтохинонов в сырье и фитопрепарате ореха черного // Фармация. 2013. № 4. С. 12–14.

6. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019.
7. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012.
8. Bandele O.J., Clawson S.J., Osheroff N. Dietary polyphenols as topoisomerase II poisons: B ring and C ring substituents determine the mechanism of enzyme-mediated DNA cleavage enhancement // Chem. Res. Toxicol. 2008. Vol. 21, No. 6. P. 1253–1260. DOI: 10.1021/tx8000785
9. Constantinou A., Mehta R., Runyan C. et al. Flavonoids as DNA topoisomerase II antagonists and poisons: structure-activity relationships // J. Nat. Prod. 1995. Vol. 58, No. 2. P. 217–225. DOI: 10.1021/np50116a009
10. Kumamoto T., Fujii M., Hou D.X. Myricetin directly targets JAK1 to inhibit cell transformation // Cancer Lett. 2009. Vol. 275, No. 1. P. 17–26. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.09.027
11. Paudel P., Satyal P., Dosoky N.S. et al. *Juglans regia* and *J. nigra*, two trees important in traditional medicine: A comparison of leaf essential oil compositions and biological activities // Nat. Prod. Commun. 2013. Vol. 8, No. 10. P.1481–1486.

References

1. Belenovskaya LM, Budantsev AL. Naphthoquinones of Russian flora species and their biological activity. *Rastitelnye resursy*. 2006;42(4):108–141. (In Russ.)
2. Gubanov IA, Krylova IL, Tikhonova VL. Dikorastushchiye poleznyye rasteniya SSSR. Moscow: Mysl'; 1976. P. 81–85. (In Russ.)
3. Dayronas JV, Zilfikarov IN. Orekh gretskiy – perspektivnoye lekarstvennoye rasteniye (obzor literatury). Proceedings of the II Russian Phytotherapeutic Congress; Oct 22–23, 2010; Moscow. *Traditsionnaya meditsina*. 2010;3(22):118–123. (In Russ.)
4. Dayronas JV, Zilfikarov IN. Spektrofotometricheskoye opredeleniye proizvodnykh yuglona v list'yakh orekha gretskogo. Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference "Sovremennaya farmatsevticheskaya nauka i praktika: traditsii, innovatsii, prioritety"; May 24–26, 2011. Samara; 2011. P. 113–114. (In Russ.)
5. Dayronas JV, Zilfikarov IN, Korochinsky AV, Korochinskaya VV. Determination of naphthoquinones in the raw material and phytopreparation of black walnut (*Juglans nigra* L). *Farmatsiya*. 2013;(4):12–14. (In Russ.)
6. Kurkin VA. Farmakognosiya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov. 4th ed. Samara; 2019. (In Russ.)
7. Kurkina AV. Flavonoidy farmakopeynykh rasteniy: monografiya. Samara; 2012. (In Russ.)
8. Bandele OJ, Clawson SJ, Osheroff N. Dietary polyphenols as topoisomerase II poisons: B ring and C ring substituents determine the mechanism

- of enzyme-mediated DNA cleavage enhancement. *Chem Res Toxicol.* 2008;21(6):1253–1260. DOI: 10.1021/tx8000785
9. Constantinou A, Mehta R, Runyan C, et al. Flavonoids as DNA topoisomerase antagonists and poisons: structure-activity relationships. *J Nat Prod.* 1995;58(2):217–225. DOI: 10.1021/np50116a009
10. Kumamoto T, Fujii M, Hou DX. Myricetin directly targets JAK1 to inhibit cell transformation. *Cancer Lett.* 2009;275(1):17–26. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.09.027
11. Paudel P, Satyal P, Dosoky NS, et al. *Juglans regia* and *J. nigra*, two trees important in traditional medicine: A comparison of leaf essential oil compositions and biological activities. *Nat Prod Commun.* 2013;8(10):1481–1486.

■ Информация об авторах

Наталья Игоревна Зименкина — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: n.i.zimenkina@samsmu.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

■ Information about the authors

Natalya I. Zimenkina — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: n.i.zimenkina@samsmu.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗВЛЕЧЕНИЙ КОРЫ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR L.*)

Н.А. Рябов, В.М. Рыжов, В.А. Куркин, С.Д. Колпакова, А.В. Жестков, А.В. Лямин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Рябов Н.А., Рыжов В.М., Куркин В.А., Колпакова С.Д., Жестков А.В., Лямин А.В. Исследование антимикробной активности извлечений коры дуба черешчатого (*Quercus robur L.*) // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 48–57. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.48-57>

Поступила: 07.07.2021

Одобрена: 17.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ Цель данного исследования — проведение сравнительного анализа антимикробной активности водно-спиртовых и хлороформных извлечений коры дуба черешчатого (*Quercus robur L.*).

Определение минимальной ингибирующей концентрации проводили методом двойных серийных разведений на питательном бульоне Мюллера – Хинтона (Bio-Rad, США). В качестве тестовых культур использовали следующие микроорганизмы: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*.

Выявлено, что наибольшим антимикробным эффектом обладают водно-спиртовые извлечения из коры дуба черешчатого в концентрациях спирта этилового 60, 70 и 96 % в отношении штаммов микроорганизмов *P. aeruginosa* и *C. albicans*. Наименьшая антимикробная активность отмечается для 40 % водно-спиртовых извлечений из коры данного растения в отношении штаммов *E. coli* и *S. aureus*. Хлороформные извлечения коры дуба черешчатого обладают выраженной антимикробной активностью в отношении штаммов *C. albicans* и *P. aeruginosa*. Предложено в качестве оптимальной концентрации спирта этилового для коры дуба черешчатого использовать 60 %, поскольку при такой его концентрации наблюдается максимальный антимикробный эффект, а также сохраняется баланс дубильных веществ и флавоноидов в полученном экстракте.

Данное исследование будет способствовать решению вопроса вторичной переработки древесных отходов коры дуба черешчатого и рационального применения их в фармацевтической практике.

Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем при создании антимикробных препаратов на основе лекарственного растительного сырья «Дуба черешчатого кора».

■ **Ключевые слова:** дуб черешчатый; *Quercus robur L.*; *Fagaceae*; кора; извлечение; антимикробная активность; минимальная ингибирующая концентрация; безотходное производство.

STUDY OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE BARK EXTRACTS OF *QUERCUS ROBUR L.*

N.A. Ryabov, V.M. Ryzhov, V.A. Kurkin, S.D. Kolpakova, A.V. Zhestkov, A.V. Lyamin

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Ryabov NA, Ryzhov VM, Kurkin VA, Kolpakova SD, Zhestkov AV, Lyamin AV. Study of the antimicrobial activity of the bark extracts of *Quercus robur L.* *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):48–57. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.48-57>

Received: 07.07.2021

Revised: 17.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ The purpose of this study is to carry out comparative analysis of the antimicrobial activity of water-ethanolic and chloroform extractions from the bark of *Quercus robur L.*

The determination of the minimum inhibitory concentration was carried out by the method of double serial dilutions in Mueller-Hinton nutrient broth (Bio-Rad, USA). *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* were used as test cultures.

It was revealed that the greatest antimicrobial effect was exhibited by water-ethanolic extractions from *Q. robur L.* bark in ethanol concentrations of 60%, 70% and 96% ethanol in relation to strains of microorganisms *P. aeruginosa*

and *C. albicans*. The lowest antimicrobial activity against strains of microorganisms *E. coli* and *S. aureus* was observed in 40% of water-ethanolic extractions. Chloroform extracts of *Q. robur* L. bark has a pronounced antimicrobial activity against *C. albicans* and *P. aeruginosa* strains. It is proposed to use 60% ethanol as the optimal concentration of ethanol for the bark of *Q. robur* L., since at the given concentration of ethanol, the maximum antimicrobial effect is observed, and the balance between the release of tannins and flavonoids into the dosage form also preserves.

This study contributes to solving the issue of recycling wood waste of *Q. robur* L. and their rational use in pharmaceutical practice.

The obtained results can be used in the future to create antimicrobial drugs based on the bark of *Q. robur* L.

■ **Keywords:** *Quercus robur* L.; *Fagaceae*; bark; extraction; antimicrobial activity; minimum inhibitory concentration; waste-free production.

Введение

Проблема поиска новых противомикробных препаратов на основе растительного сырья в современной фармацевтической практике по-прежнему остается актуальной. Перспективным лекарственным растительным объектом для создания противомикробных препаратов является представитель рода *Quercus* — дуб черешчатый (*Quercus robur* L.). Род *Quercus* насчитывает более 500 видов в умеренных и субтропических районах Северного полушария. В России в диком виде произрастают 19 видов, интродуцировано около 50 видов [3, 6]. Дуб черешчатый — одна из важнейших лесообразующих пород Европы и европейской части России [3, 6]. Помимо применения «классического» фармакопейного сырья — молодых побеговых частей дуба — интерес представляет многолетняя кора стволовых частей дерева [2, 11, 13]. Кора дуба черешчатого многолетняя является отходами деревоперерабатывающей промышленности и не применяется в фармацевтической практике, в то время как может быть использована в качестве сырья для получения ценных биологически активных соединений (БАС), таких как флавоноиды, дубильные вещества и др. Официальной формой для лекарственного растительного сырья коры дуба считается отвар, так как вода позволяет извлекать из сырья сумму дубильных веществ, обеспечивающих фармакологические свойства, такие как вяжущие, противовоспалительные, antimicrobial эффекты [9, 10, 14, 15]. Кора дуба также входит в состав комплексных препаратов, обладающих противовоспалительным, антисептическим действием, таких как Стоматофит, Тонзилгон, Витадент, Дентос и др. [7, 8]. В коре дуба помимо дубильных веществ содержатся флавоноиды, среди которых кверцетин, кверцитрин, лейкоантоцианидин [6, 8, 9, 13, 14]. Флавоноиды как группа БАС обладают рядом ценных фармакологических свойств, одно из которых — antimicrobial актив-

ность [1, 4, 9, 12, 14, 15]. Поэтому интерес представляют водно-спиртовые извлечения из коры дуба черешчатого, которые, на наш взгляд, могут быть перспективным объектом для получения галеновых препаратов с antimicrobial свойствами.

Кроме того, изучение фитохимического состава и фармакологической активности многолетней коры дуба черешчатого тесно связано с вопросом рационального природопользования и вторичной переработки сырья, так как отходы коры дуба в процессе лесозаготовки составляют значительную часть и, как правило, утилизируются.

В целях получения объективных результатов необходимо проведение скринингового анализа, в результате которого можно сделать выбор в пользу оптимальной концентрации экстрагента, позволяющего максимально извлекать сумму имеющихся БАС в обоих образцах коры и тем самым обеспечивать максимальный antimicrobial эффект в отношении основных клинически значимых штаммов микроорганизмов.

Цель исследования — проведение сравнительного анализа antimicrobial активности водно-спиртовых и хлороформных извлечений образцов коры дуба черешчатого (*Q. robur* L.).

Материалы и методы

В качестве объектов исследования были взяты образцы коры дуба черешчатого *Q. robur* L.: кора фармакопейная (Образец № 1) (АО «Красногорсклессредства» г. Красногорск, S311217) и многолетняя стволовая кора дуба черешчатого — кора многолетняя (Образец № 2), полученная в качестве отходов производства от деревоперерабатывающей компании ООО «ДУО» (г. Самара).

В процессе проведения исследования в качестве объектов использовали водно-спиртовые извлечения на концентрациях этилового спирта: 40, 60, 70, 96 % [95 % спирт

марки ООО «Гиппократ», Россия, г. Самара, серия 360917 соответствует требованиям ОФС.1.3.0001.15 «Реактивы. Индикаторы», поскольку концентрация 95 % спирта входит в нормируемый предел содержания 94,9–96,0 %, а также на хлороформе (марка «х.ч.», ООО «Компонент-Реактив», СТП ТУ СОМР 2-028-06, ООН 1888) в соотношении сырье/экстрагент 1 : 50 на основе фармакопейной и многолетней коры. Необходимые концентрации спирта были получены путем разведения 95 % этилового спирта по таблице № 5

приложения к Государственной фармакопее РФ XIV издания [2]. Использовали этиловый спирт, поскольку он является одним из наиболее оптимальных экстрагентов для извлечения биологически активных веществ из растительного сырья [4, 5].

В качестве тестовых культур были использованы штаммы Американской коллекции типовых культур (ATCC): *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) и *Candida albicans* (клинический штамм).

Таблица 1 / Table 1

Минимальные подавляющие концентрации спирта этилового (С, %: 40, 60, 70 и 96 %) и димексида («отрицательный» контроль)
Minimum inhibitory concentrations of ethanol (С, %: 40%, 60%, 70% and 96%) and Dimexide (“negative” control)

| Объект | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | | | | | | |
| Этиловый спирт 40 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 60 % | – | – | – | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 70 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 96 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Димексид | – | + | + | + | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | | | | | | |
| Этиловый спирт 40 % | – | – | – | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 60 % | – | + | + | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 70 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 96 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Димексид | – | + | + | + | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | | | | | | | |
| Этиловый спирт 40 % | – | – | – | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 60 % | – | – | – | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 70 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 96 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Димексид | – | + | + | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | | | | | | | |
| Этиловый спирт 40 % | – | – | – | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 60 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 70 % | – | – | + | + | + | + | + |
| Этиловый спирт 96 % | – | – | – | + | + | + | + |
| Димексид | – | + | + | + | + | + | + |

Примечание. Здесь и в табл. 2–11. + Наличие роста микроорганизма; – отсутствие роста микроорганизма.
Note. Here and in Table 2–11. + Signs of the growth of the microorganisms are present; – signs of the growth of the microorganisms are absent.

Определение минимальной ингибирующей концентрации проводили методом двойных серийных разведений в бульоне (пробирочный, макрометод) в соответствии с методиками, описанными в МУК 4.2.1890-04 [16]. Тестирование проводилось в объеме 1 мл (0,5 мл инокулюма микроорганизмов и 0,5 мл соответствующего разведения исследуемого образца) с конечной концентрацией исследуемого микроорганизма примерно $5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл. В качестве питательной среды использовали питательный бульон Мюллера – Хинтона (Bio-Rad, США). Инкубация проходила при температуре 35 °С в течение 24 ч. Параллельно проводили опыт для постановки «отрицательного» контроля (табл. 1). Результаты оценивали визуально по наличию/отсутствию роста микроорганизмов в пробирках с соответствующими разведениями исследуемых образцов.

Результаты и их обсуждение

В процессе исследования были проанализированы водно-спиртовые извлечения двух образцов коры в концентрациях 40, 60, 70 и 96 %. Концентрации были выбраны в качестве основных, так как являются

фармакопейными. Были также изучены хлороформные экстракты коры дуба черешчатого.

В результате тестирования 40 % водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (образец № 1) выявлена задержка роста для штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli* при разведении в 2 и 4 раза; для штаммов *P. aeruginosa* — в 2, 4 и 8 раз; для штаммов *C. albicans* — в 2, 4, 8 и 16 раз (табл. 2).

В процессе тестирования водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (образец № 1) на 60 % этиловом спирте зафиксирована задержка роста для штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli* при разведении в 2, 4, 8 и 16 раз; для штаммов *P. aeruginosa* и *C. albicans* — в 2, 4, 8, 16 и 32 раза (табл. 3).

В ходе тестирования 70 % водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (образец № 1) наблюдалась задержка роста для штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli* при разведении в 2, 4 и 8 раз; для штаммов *P. aeruginosa* — в 2, 4, 8, 16 и 32 раза; для штаммов *C. albicans* — в 2, 4, 8 и 16 раз (табл. 4).

Таблица 2 / Table 2

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (40 % этиловый спирт) (образец № 1)

Water-ethanolic extract of the pharmacopoeial bark of *Quercus robur* (40% ethanol) (Sample No. 1): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | + | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | + | + | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | + | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | + | + | + |

Таблица 3 / Table 3

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (60 % этиловый спирт) (образец № 1)

Water-ethanolic extract of the pharmacopoeial bark of *Quercus robur* (60% ethanol) (Sample No. 1): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | – | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | – | + | + |

Таблица 4 / Table 4

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (70 % этиловый спирт) (образец № 1)

Water-ethanolic extract of the pharmacopoeial bark of *Quercus robur* (70% ethanol) (Sample No. 1): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | – | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | + | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | + | + | + |

Таблица 5 / Table 5

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (96 % этиловый спирт) (образец № 1)

Water-ethanolic extract of the pharmacopoeial bark of *Quercus robur* (96% ethanol) (Sample No. 1): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | – | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | – | + | + |

В результате тестирования 96 % водно-спиртового извлечения фармакопейной коры дуба черешчатого (образец № 1) происходила задержка роста для штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli* при разведении в 2, 4, 8 и 16 раз; для штаммов *P. aeruginosa* и *C. albicans* — в 2, 4, 8, 16 и 32 раза (табл. 5).

В результате тестирования 40 % водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба (образец № 2) наблюдалась схожая картина задержки роста для всех штаммов с результатами анализа фармакопейной коры (образца № 1) в аналогичных условиях, что говорит о схожем спектре БАС. При анализе были получены следующие результаты: задержка роста для штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli* при разведении в 2 и 4 раза; для штаммов *P. aeruginosa* и *C. albicans* — в 2, 4, 8 и 16 раз (табл. 6).

В процессе тестирования водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба черешчатого (образец № 2) на 60 % этиловом спирте были получены следующие результаты: задержка роста для штаммов микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli* при разведении в 2, 4, 8 и 16 раз; для штаммов *P. aeruginosa* и *C. albicans* — в 2, 4, 8, 16 и 32 раза (табл. 7).

В ходе анализа 70 % водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба черешчатого (образец № 2) наблюдалась задержка роста следующих штаммов: для всех штаммов микроорганизмов при разведении в 2, 4 и 8 раз; для *P. aeruginosa*, *E. coli* и *C. albicans* — при 2, 4, 8 и 16-кратном разведении; задержка роста при разведении от 2 до 32 раз — для *P. aeruginosa* и *C. albicans* (табл. 8).

Антимикробная активность также была обнаружена для водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба черешчатого (образец № 2) на 96 % этиловом спирте. В результате задержка роста при разведении от 2 до 32 раз наблюдалась для микроорганизмов *P. aeruginosa*, *E. coli* и *C. albicans*; при 2, 4, 8 и 16-кратном разведении отсутствовал рост *S. aureus*; задержка роста при разведении от 2 до 64 раз обнаружена для *P. aeruginosa* (табл. 9).

В результате тестирования хлороформного экстракта фармакопейной коры дуба черешчатого (образец № 1) было обнаружено антимикробное действие в отношении всех указанных штаммов. В частности, при 2, 4, 8, 16-кратном разведении наблюдается антимикробная активность в отношении

Таблица 6 / Table 6

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба черешчатого (40 % этиловый спирт) (образец № 2)

Water-ethanolic extract of perennial bark of *Quercus robur* (40% ethanol) (Sample No. 2): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | + | + | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | + | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | + | + | + |

Таблица 7 / Table 7

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба черешчатого (60 % этиловый спирт) (образец № 2)

Water-ethanolic extract of perennial bark of *Quercus robur* (60% ethanol) (Sample No. 2): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | – | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | – | + | + |

Таблица 8 / Table 8

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба черешчатого (70 % этиловый спирт) (образец № 2)

Water-ethanolic extract of perennial bark of *Quercus robur* (70% ethanol) (Sample No. 2): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | – | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | + | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | – | + | + |

Таблица 9 / Table 9

Результаты тестирования водно-спиртового извлечения многолетней коры дуба черешчатого (96 % этиловый спирт) (образец № 2)

Water-ethanolic extract of perennial bark of *Quercus robur* (96% ethanol) (Sample No. 2): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | – | – | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | – | – | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | – | + | + |

Таблица 10 / Table 10

Результаты тестирования хлороформного экстракта в димексиде фармакопейной коры дуба черешчатого (образец № 1)
Chloroform extract in Dimexide of the pharmacopoeial bark of the *Quercus robur* (Sample No. 1): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | + | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | – | + | + |

Таблица 11 / Table 11

Результаты тестирования хлороформного экстракта в димексиде многолетней коры дуба черешчатого (образец № 2)
Chloroform extract in Dimexide of perennial bark of the *Quercus robur* (Sample No. 2): Testing results

| Штамм микроорганизма | Кратность разведения | | | | | | |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| | 1 : 2 | 1 : 4 | 1 : 8 | 1 : 16 | 1 : 32 | 1 : 64 | 1 : 128 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | – | – | – | – | + | + | + |
| <i>Escherichia coli</i> | – | – | – | + | + | + | + |
| <i>Candida albicans</i> | – | – | – | – | – | + | + |

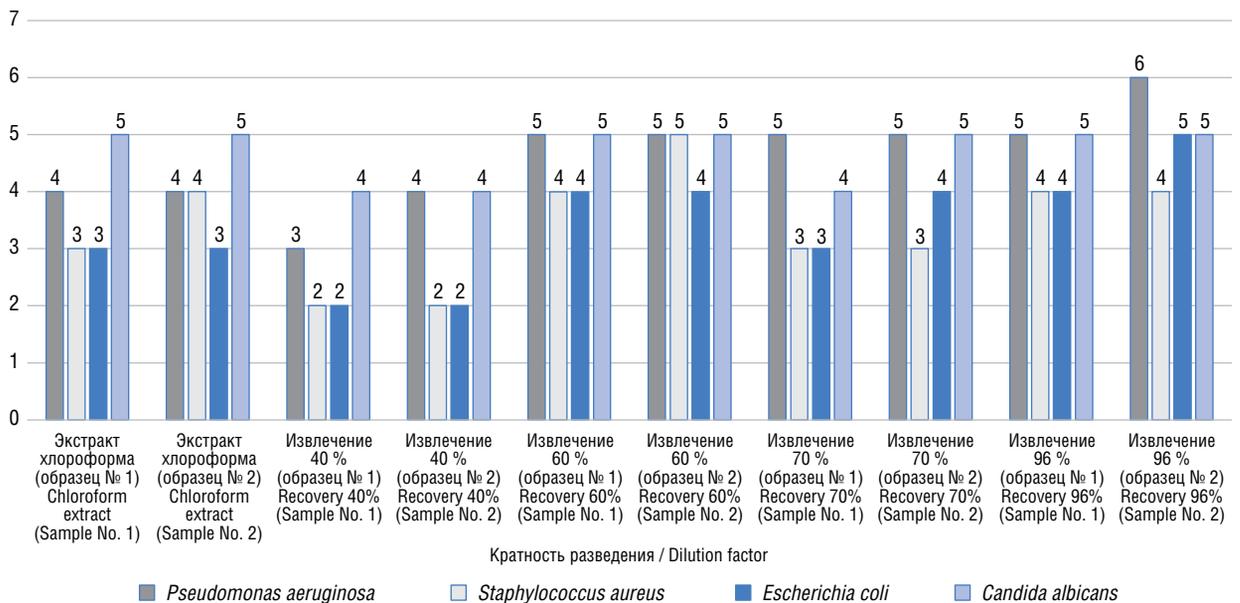


Рисунок. Сравнительная диаграмма антибактериальной активности извлечений коры дуба черешчатого: фармакопейная (образец № 1), многолетняя (образец № 2) (по оси абсцисс — кратность разведения)

Figure. Comparative diagram of the antibacterial activity of the *Quercus robur* bark extracts: pharmacopoeial (Sample No. 1), perennial (Sample No. 2) (abscissa — dilution ratio)

штамма *P. aeruginosa*; при 2, 4, 8-кратном разведении — в отношении штаммов *S. aureus* и *E. coli*; при разведении в 32 раза — в отношении *C. albicans* (табл. 10).

При тестировании хлороформного экстракта многолетней коры дуба черешчатого (образец № 2) выявлено антимикробное действие в отношении всех указанных штаммов,

аналогичное результатам тестирования фармакопейной коры. В частности, при 2, 4, 8, 16-кратном разведении наблюдается антимикробная активность в отношении штамма *P. aeruginosa*; при 2, 4, 8 и 16-кратном разведении — в отношении штаммов *S. aureus* и *E. coli*; при разведении в 32 раза — в отношении *C. albicans* (табл. 11).

При анализе изучаемых экстрактов можно сделать вывод об эффективности экстрактов многолетней коры дуба черешчатого, как хлороформных, так и спиртовых. На диаграмме сравнения антимикробной активности исследуемых образцов видно, что наибольшим антимикробным эффектом обладают водно-спиртовые извлечения фармакопейной и многолетней коры дуба черешчатого (образцы № 1 и 2) в концентрациях этилового спирта 60, 70 и 96 % в отношении штаммов *P. aeruginosa* и *C. albicans* при кратности разведения 1 : 32. В наименьшей степени антимикробную активность проявляют водно-спиртовые извлечения обоих образцов коры в отношении штаммов микроорганизмов *E. coli* и *S. aureus* (см. рисунок).

Все извлечения обоих образцов коры дуба черешчатого имеют стабильный антимикробный эффект по отношению к штамму *C. albicans* и *P. aeruginosa* (см. рисунок). При разведении в 128 раз происходил рост всех микроорганизмов (см. табл. 11).

Выводы

Таким образом, было приведено скрининговое исследование антимикробной активности водно-спиртовых и хлороформных извлечений коры дуба черешчатого: фармакопейной (образец № 1) и многолетней (образец № 2).

В ходе исследования изучены антимикробные эффекты полученных извлечений на ряд основных патогенных клинических штаммов: *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*.

По результатам выполненной работы можно сделать вывод, что водно-спиртовые и хлороформные извлечения обоих образцов коры обладают выраженной антимикробной активностью в отношении всех указанных штаммов микроорганизмов, что говорит о возможности применения отходов деревоперерабатывающей промышленности многолетней коры дуба (образец № 2) в качестве альтернативы для фармакопейного сырья коры дуба черешчатого (образец № 1) и создания на их основе препаратов с антимикробной активностью. Для исследуемых образцов коры наиболее оптимальным экстрагентом по результатам исследования можно предложить

60 % этиловый спирт, поскольку при данной его концентрации соблюдается баланс между содержанием дубильных веществ и флавоноидов в извлечении, а также при данной концентрации спирта этилового наблюдается максимальный антимикробный эффект.

В рамках стратегии безотходного производства настоящее исследование будет способствовать решению вопроса вторичной переработки древесных отходов дуба черешчатого и рационального использования его в фармацевтической практике.

Полученные в ходе исследования результаты могут быть использованы в дальнейшем при создании антимикробных препаратов на основе коры дуба черешчатого.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Список литературы

1. Буданцев А.Л. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 1. Семейства *Actinidiaceae-Malvaceae, Euphorbiaceae-Haloragaceae* / отв. ред. А.В. Буданцев. СПб.; М.: КМК, 2009.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I–IV. М., 2018. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>. Дата обращения: 16.04.2021.
3. Гроздова Н.Б., Некрасов В.И., Глоба-Михайленко Д.А. Деревья, кустарники и лианы. М., 1986. С. 176–178.
4. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019. С. 966–969.
5. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012.
6. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М., 2014. С. 200–201.
7. Справочник лекарственных средств VIDAL [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule-in/763>. Дата обращения: 04.04.2021.
8. Шагалиева Н.Р., Куркин В.А., Авдеева Е.В. и др. Актуальные аспекты разработки и стандартизации стоматологического фитопрепарата «Дентос» // Фундаментальные исследования. 2013. № 10–7. С. 1490–1494.
9. Assessment report on *Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd., cortex. EMA/HMPC/3206/2009.
10. Bedi M.K., Shenefelt P.D. Herbal therapy in dermatology // Arch. Dermatol. 2002. Vol. 138, No. 2. P. 237–238. DOI: 10.1001/archderm.138.2.232
11. British Pharmacopoeia 2009. British Pharmacopoeia Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations // Oak Bark. 2009. Vol. III.

12. Cushnie T.P., Lamb A.J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids // *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2011. Vol. 38, No. 2. P. 99–107. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014
13. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition // EDQM – European Directorate for the Quality of Medicines [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>. Дата обращения: 15.05.2021.
14. Marais J.P.J., Deavours B., Dixon R.A., Ferreira D. The Stereochemistry of Flavonoids. In: Grotewold E., ed. *The Science of Flavonoids*. New York: Springer, 2006. P. 1–46. DOI: 10.1007/978-0-387-28822-2_1
15. Okuda T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants // *Phytochemistry*. 2005. Vol. 66, No. 17. P. 2012–2031. DOI: 10.1016/j.phytochem.2005.04.023
16. 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.
5. Kurkina AV. Flavonoidy farmakopejnyh rastenij: monografiya. Samara; 2012. (In Russ.)
6. Mayevskiy PF. Flora srednej polosy evropejskoj chasti Rossii. 11th ed. Moscow; 2014. P. 200–201. (In Russ.)
7. Spravochnik lekarstvennyh sredstv VIDAL [Internet]. Available from: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule-in/763>. Accessed: 04.04.2021. (In Russ.)
8. Shagalieva NR, Kurkin VA, Avdeeva EV, et al. The actual aspects of development and standardization of stomatological phytopreparation “dentos”. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2013;(10–7):1490–1494. (In Russ.)
9. Assessment report on *Quercus robur* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Quercus pubescens* Willd., cortex. EMA/HMPC/3206/2009.
10. Bedi MK, Shenefelt PD. Herbal therapy in dermatology. *Arch Dermatol*. 2002;138(2):237–238. DOI: 10.1001/archderm.138.2.232
11. British Pharmacopoeia 2009. British Pharmacopoeia Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations. Oak Bark. 2009. Vol. III.
12. Cushnie TP, Lamb AJ. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;38(2):99–107. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014

References

1. Budantsev AL. Rastitel'nye resursy Rossii: Dikorastushchie cvetkovye rasteniya, ih komponentnyj sostav i biologicheskaya aktivnost'. Vol. 1. Semejstva *Actinidiaceae-Malvaceae, Euphorbiaceae-Haloragaceae*. Ed. by A.V. Budancev. Saint Petersburg; Moscow: KMK, 2009. (In Russ.)
2. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV ed. Vol. I–IV. Moscow; 2018 [Internet]. Available from: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Accessed: 16.04.2021. (In Russ.)
3. Grozdova NB, Nekrasov VI, Globa-Mikhailenko DA. Derev'ya, kustarniki i liany. Moscow; 1986. P. 176–178. (In Russ.)
4. Kurkin VA. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov. 4th ed. Samara; 2019. P. 966–969. (In Russ.)
13. European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition // EDQM – European Directorate for the Quality of Medicines [Internet]. Available from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition>. Accessed: 15.05.2021.
14. Marais JPJ, Deavours B, Dixon RA, Ferreira D. The Stereochemistry of Flavonoids. In: Grotewold E., ed. *The Science of Flavonoids*. New York: Springer; 2006. P. 1–46. DOI: 10.1007/978-0-387-28822-2_1
15. Okuda T. Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. *Phytochemistry*. 2005;66(17):2012–2031. DOI: 10.1016/j.phytochem.2005.04.023
16. Guidelines for susceptibility testing of microorganisms to antibacterial agents. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2004;6(4):306–359. (In Russ.)

Информация об авторах

Николай Анатольевич Рябов — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1332-953X>. E-mail: ryabov.nikolay.2014@mail.ru

Виталий Михайлович Рыжов — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8399-9328>. E-mail: lavr_rvm@mail.ru

Information about the authors

Nikolay A. Ryabov — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and the Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1332-953X>. E-mail: ryabov.nikolay.2014@mail.ru

Vitaly M. Ryzhov — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacognosy with Botany and the Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8399-9328>. E-mail: lavr_rvm@mail.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>. E-mail: kurkinvladimir@yandex.ru

Светлана Дмитриевна Колпакова — доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9358-4436>. E-mail: Sdkolpakova@mail.ru

Александр Викторович Жестков — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: avzhestkov2015@yandex.ru

Артём Викторович Лямин — кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5905-1895>. E-mail: avlyamin@rambler.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7513-9352>. E-mail: kurkinvladimir@yandex.ru

Svetlana D. Kolpakova — Doctor of Medical Sciences, Professor, Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology. Samara State Medical University, Samara, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9358-4436>. E-mail: Sdkolpakova@mail.ru

Alexander V. Zhestkov — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: avzhestkov2015@yandex.ru

Artem V. Lyamin — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology. Samara State Medical University, Samara, Russia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5905-1895>. E-mail: avlyamin@rambler.ru

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИСТЬЕВ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА СИРЕНЬ (*SYRINGA* L.)

А.Д. Серебрякова, В.А. Куркин, А.И. Агапов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Серебрякова А.Д., Куркин В.А., Агапов А.И. Фитохимическое исследование листьев представителей рода Сирень (*Syringa* L.) // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 58–64. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.58-64>

Поступила: 04.08.2021

Одобрена: 30.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ Работа посвящена вопросам фитохимического исследования листьев различных видов рода Сирень (*Syringa* L.) в качестве перспективных источников сырья, содержащих флавоноиды. Для проведения эксперимента были выбраны листья сирени (с.) обыкновенной, с. венгерской, с. амурской, с. мелколистной, с. волосистой и с. Звегинцева. В извлечениях листьев из исследуемых видов сирени обнаружено наличие рутина. Батохромный сдвиг длинноволновой полосы в ультрафиолетовых спектрах растворов исследуемых извлечений свидетельствует о наличии флавоноидов. В условиях дифференциальной спектрофотометрии обнаружен максимум поглощения в области 406–412 нм. Сумма флавоноидов при длине волны 412 нм в пересчете на рутин во всех исследуемых образцах сырья варьирует от 1,43 до 2,92 %.

▪ **Ключевые слова:** сирень; *Syringa* L.; листья; флавоноиды; рутин; стандартизация; спектрофотометрия.

PHYTOCHEMICAL STUDY OF LEAVES OF THE GENUS *SYRINGA* L. SPECIES

A.D. Serebryakova, V.A. Kurkin, A.I. Agapov

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Serebryakova AD, Kurkin VA, Agapov AI. Phytochemical study of leaves of the genus *Syringa* L. species. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):58–64. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.58-64>

Received: 04.08.2021

Revised: 30.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ The work is devoted to the phytochemical study of the leaves of various species of the genus *Syringa*. They are promising sources of raw material containing flavonoids. The leaves of *S. vulgaris*, *S. josikaea*, *S. amurensis*, *S. microphylla*, *S. villosa* and *S. sweginzovii* were selected for the experiment. Rutin was found in the studied extracts of lilac leaves. The bathochromic shift of the long-wave band in the UV spectra of the solutions of the studied extracts indicates the presence of flavonoids. Under the conditions of differential spectrophotometry, the maximal absorption was detected at the range of 406–412 nm of plant raw material. The total flavonoids at the wavelength of 412 nm calculated on rutin in all the studied samples varies from 1.43% to 2.92%.

▪ **Keywords:** *Syringa vulgaris* L.; leaves; flavonoids; rutin; standardization; spectrophotometry.

Введение

В качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС) зарегистрирована кора сирени обыкновенной (ВФС 42-2106-92). Препараты на основе коры сирени обладают широким спектром фармакологической активности: иммуномодулирующим, адаптогенным, ангиолитическим и антидепрессивным действием [2, 4, 6]. Кора сирени обыкновенной является источником получения государственного стандартного образца (ГСО) сирингина, или элеутерозида В (ВФС 42-2088-92 «Сирингин-стандартный образец»), который применяется в целях стандартизации сырья и препа-

ратов элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* Rupr. et Maxim) [1–4]. В коре сирени обыкновенной также было доказано наличие других фенилпропаноидов (кониферин, актеозид, форзитиазид), фенольных соединений (тирозол, гидрокситирозол, салидрозид) и иридоидов (олеуропенин) [2, 4]. Разработаны методики качественного и количественного анализа сырья «Сирени обыкновенной кора», а также препаратов «Сирени настойка» и «Сирени сироп» с использованием ГСО сирингина методами тонкослойной хроматографии, прямой спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной

хроматографии [2–6]. Не менее интересными с точки зрения источника биологически активных соединений (БАС) являются листья сирени обыкновенной, в которых содержатся флавоноиды и маннит [7, 8]. Ранее нами была разработана методика количественного определения флавоноидов в листьях сирени обыкновенной [8, 9]. Принимая во внимание то обстоятельство, что в народной медицине листья сирени применяются в качестве противовоспалительного и антибактериального средства, представляется актуальным проведение сравнительного спектрофотометрического исследования листьев с. обыкновенной, с. венгерской, с. амурской, с. мелколистной, с. волосистой и с. Звезгинцева [9].

Цель работы — сравнительное исследование флавоноидного состава листьев представителей рода Сирень.

В **задачи** исследования входило:

- отбор исследуемых образцов сырья;
- определение содержания суммы флавоноидов в исследуемых образцах сырья;
- определение наиболее перспективных видов сирени с точки зрения содержания флавоноидов.

Результаты и их обсуждение

Род Сирень (*Syringa* L.) насчитывает около 30 видов, широко культивируемых в Европе, Азии и странах СНГ [2].

Особый интерес, наряду с фармакопейным видом — сиренью обыкновенной, представляют листья и других видов рода Сирень, содержащие флавоноиды.

Объектом исследования служили листья с. обыкновенной, с. венгерской, с. амурской,

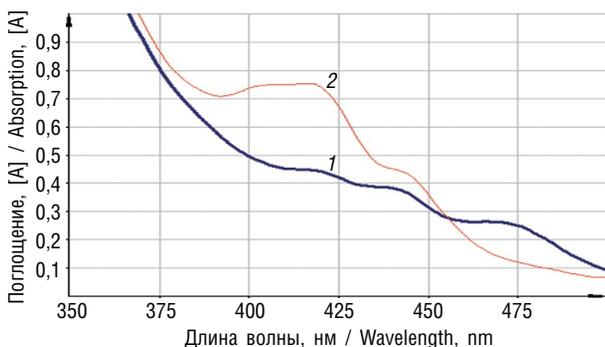


Рис. 3. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени венгерской: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Fig. 3. Electronic spectra of the solutions of the water-alcohol extraction from *Syringa josikaea* leaves: 1 — extraction solution; 2 — extraction solution with the addition of aluminum chloride

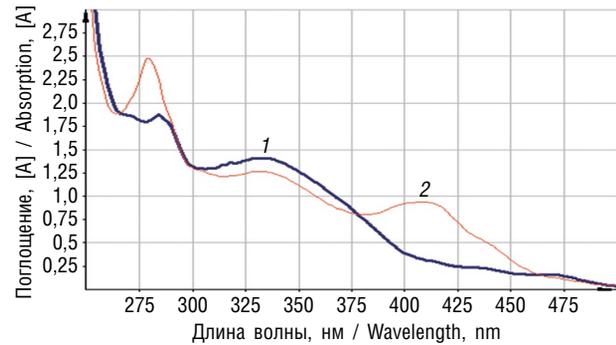


Рис. 1. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени обыкновенной: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Fig. 1. Electronic spectra of the solutions of the water-alcohol extraction from *Syringa vulgaris* leaves: 1 — extraction solution; 2 — extraction solution with the addition of aluminum chloride

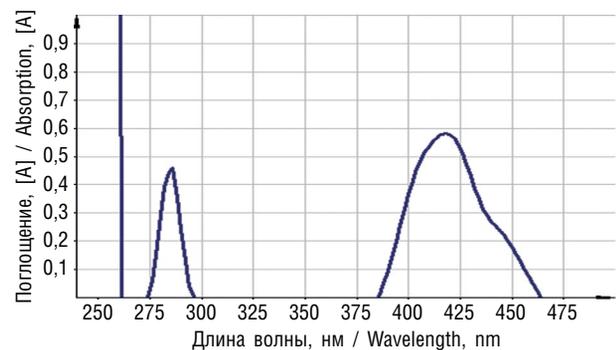


Рис. 2. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени обыкновенной (дифференциальный вариант)

Fig. 2. The electronic spectrum of the solution of the water-alcohol extraction from the leaves of *Syringa vulgaris* (differential version)

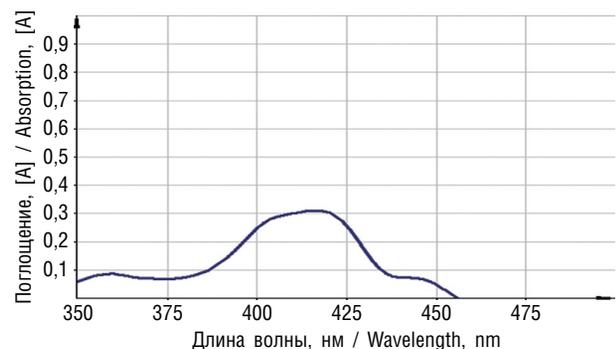


Рис. 4. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени венгерской (дифференциальный вариант)

Fig. 4. The electronic spectrum of the solution of the water-alcohol extraction from the leaves of *Syringa josikaea* (differential version)

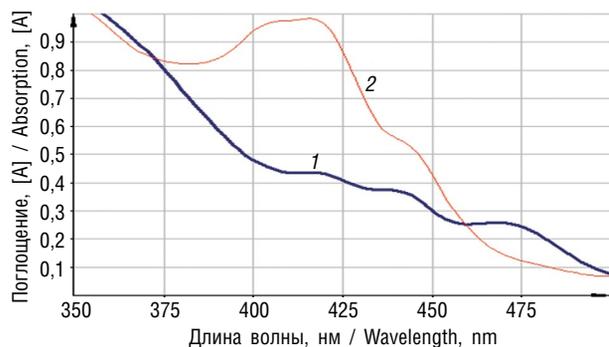


Рис. 5. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени амурской: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Fig. 5. Electronic spectra of the solutions of the water-alcohol extraction from *Syringa amurensis* leaves: 1 — extraction solution; 2 — extraction solution with the addition of aluminum chloride

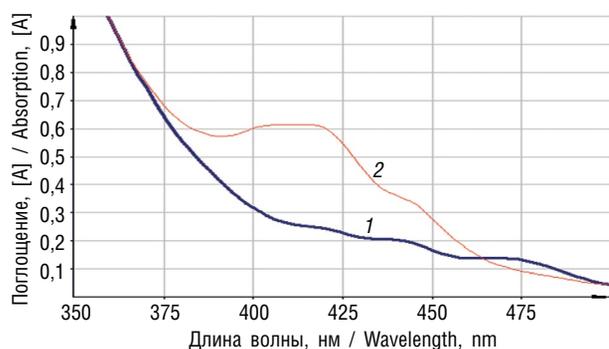


Рис. 7. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени мелколистной: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Fig. 7. Electronic spectra of the solutions of the water-alcohol extraction from *Syringa microphylla* leaves: 1 — extraction solution; 2 — extraction solution with the addition of aluminum chloride

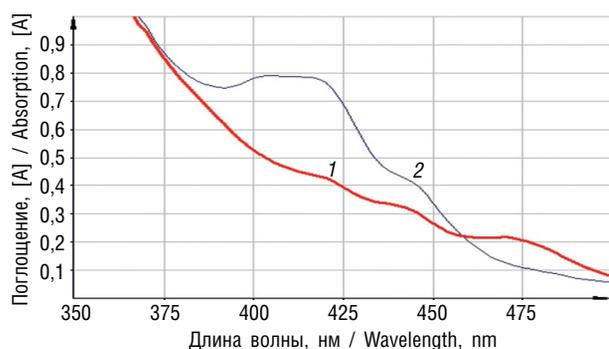


Рис. 9. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени волосистой: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Fig. 9. Electronic spectra of the solutions of the water-alcohol extraction from *Syringa villosa* leaves: 1 — extraction solution; 2 — extraction solution with the addition of aluminum chloride

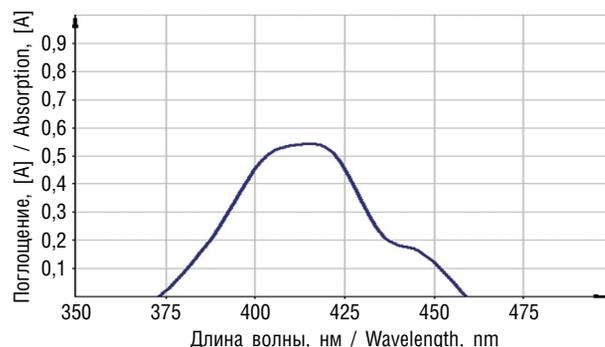


Рис. 6. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени амурской (дифференциальный вариант)

Fig. 6. The electronic spectrum of the solution of the water-alcohol extraction from the leaves of *Syringa amurensis* (differential version)

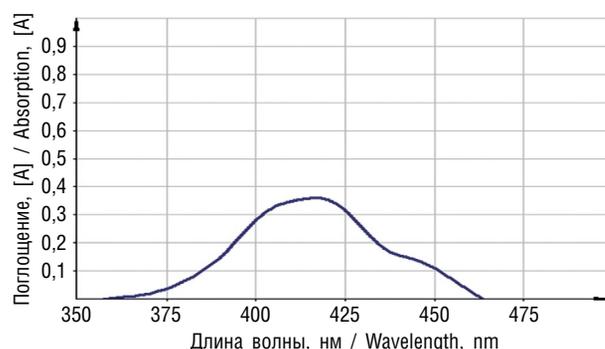


Рис. 8. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени мелколистной (дифференциальный вариант)

Fig. 8. The electronic spectrum of the solution of the water-alcohol extraction from the leaves of *Syringa microphylla* (differential version)

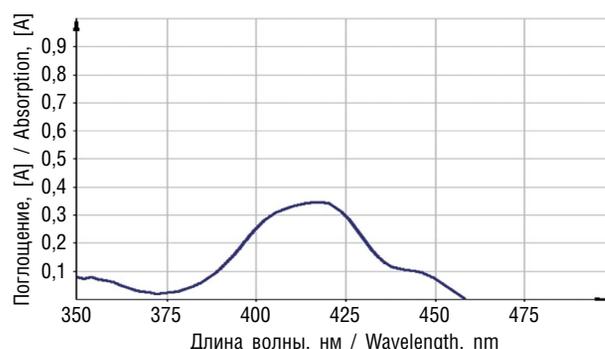


Рис. 10. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени волосистой (дифференциальный вариант)

Fig. 10. The electronic spectrum of the solution of the water-alcohol extraction from the leaves of *Syringa villosa* (differential version)

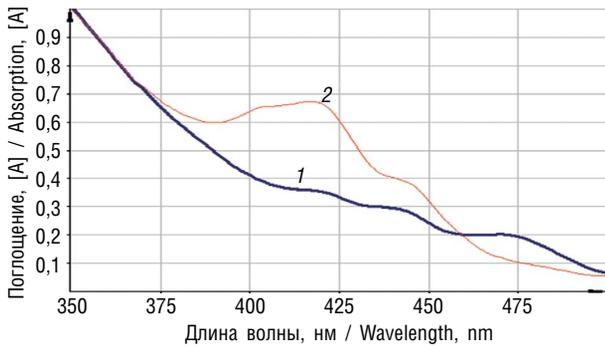


Рис. 11. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из листьев сирени Звегинцева: 1 — раствор извлечения; 2 — раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида

Fig. 11. Electronic spectra of the solutions of the water-alcohol extraction from *Syringa sweginzowii* leaves: 1 — extraction solution; 2 — extraction solution with the addition of aluminum chloride

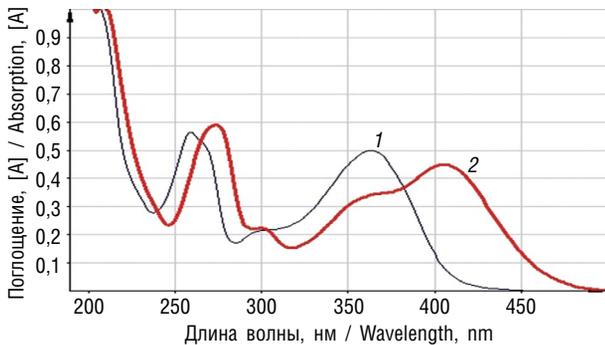


Рис. 13. Электронные спектры спиртовых растворов рутина: 1 — исходный раствор; 2 — раствор с добавлением алюминия хлорида

Fig. 13. Electronic spectra of the alcohol solutions of rutin: 1 — extraction solution; 2 — extraction solution with the addition of aluminum chloride

с. мелколистной, с. волосистой и с. Звегинцева, заготовленные в мае 2021 г. в Ботаническом саду Самарского университета.

Определено, что в ультрафиолетовых (УФ) спектрах водно-спиртового извлечения листьев сирени наблюдается bathochromный сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов (рис. 1–12), как и в случае рутина (рис. 13, 14). Изучение УФ-спектров ГСО рутина показало, что раствор данного стандарта в присутствии алюминия хлорида имеет максимум поглощения при длине волны 412 нм (рис. 13). В УФ-спектрах водно-спиртовых извлечений из листьев сирени в дифференциальном варианте максимум поглощения обнаруживается также при длине волны 412 нм (рис. 1–12), который соответствует максимуму поглощения раствора рутина (рис. 13, 14).

Таким образом, рутин может быть использован в методике анализа в качестве ГСО.

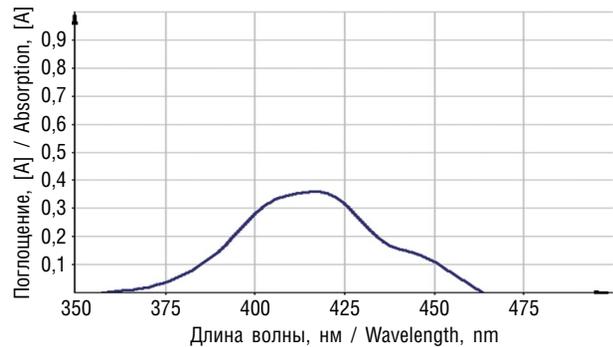


Рис. 12. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из листьев сирени Звегинцева (дифференциальный вариант)

Fig. 12. The electronic spectrum of the solution of the water-alcohol extraction from the leaves of *Syringa sweginzowii* (differential version)

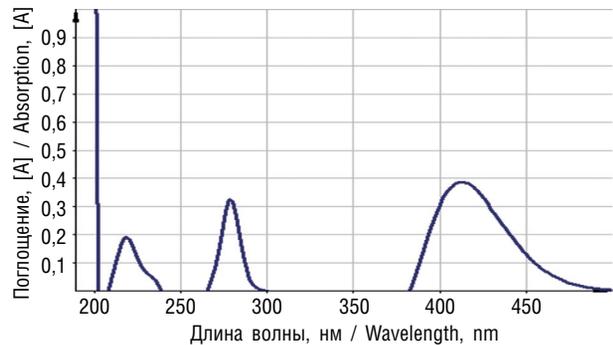


Рис. 14. Электронный спектр спиртового раствора рутина (дифференциальный вариант)

Fig. 14. Electronic spectrum of the alcohol solution of rutin (differential version)

С целью количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной нами использовались следующие оптимальные условия экстракции флавоноидов: экстрагент 70 % этиловый спирт; соотношение сырье/экстрагент 1 : 50; время экстракции — извлечение на кипящей водяной бане в течение 45 мин; степень измельчения — 1 мм.

Методика количественного определения суммы флавоноидов в листьях сирени обыкновенной. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70 % этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 45 мин.

Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (красная полоса). Испытуемый раствор готовят следующим образом: 1 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 412 нм через 40 мин после приготовления. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 1 мл извлечения (1 : 50) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора 96 % этиловым спиртом до метки.

П р и м е ч а н и е: *Приготовление раствора рутина-стандартного образца.* Около 0,020 г (точная навеска) рутин помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 70 % этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 70 % этиловым спиртом до метки (раствор А рутин). 1 мл раствора А рутин помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки 96 % этиловым спиртом (испытуемый раствор Б рутин). Измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 412 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор,

который готовят следующим образом: 1 мл раствора А рутин помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (раствор сравнения Б рутин).

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин и абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 50 \cdot 25 \cdot (100 - W)},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 — оптическая плотность раствора ГСО рутин; m — масса сырья, г; m_0 — масса ГСО рутин, г; W — потеря в массе при высушивании в процентах.

В случае отсутствия стандартного образца рутин целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения — 240.

$$X = \frac{D \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 240 \cdot (100 - W)},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора; m — масса сырья, г; m_0 — масса ГСО рутин, г; 240 — удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) ГСО рутин при 412 нм; W — потеря в массе при высушивании в процентах.

В таблице приведены результаты расчетов по содержанию суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием СО рутин при аналитической длине волны 412 нм в листьях некоторых видов сиреней. Содержание суммы флавоноидов для исследуемых образцов

Таблица / Table

Содержание суммы флавоноидов в образцах листьев сирени
The content of total flavonoids in samples of *Syringa* leaves

| Характеристика образца сырья | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на абсолютно сухое сырье и рутин, % |
|---|--|
| Листья сирени обыкновенной. Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2021 г.) | 2,92 ± 0,18 |
| Листья сирени венгерской. Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2021 г.) | 1,68 ± 0,10 |
| Листья сирени амурской. Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2021 г.) | 2,60 ± 0,16 |
| Листья сирени мелколистной. Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2021 г.) | 1,43 ± 0,09 |
| Листья сирени волосистой. Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2021 г.) | 1,31 ± 0,08 |
| Листья сирени Звегинцева. Ботанический сад Самарского университета, г. Самара (май 2021 г.) | 1,73 ± 0,11 |

сирени обыкновенной и с. амурской варьирует от 2,60 до 2,94 %, что соответствует нижнему пределу содержания суммы флавоноидов, определенному нами ранее (не менее 2,5 %), для исследуемых образцов с. венгерской, с. волосистой, с. мелколистной, с. Звегинцева от 1,31 до 1,78 % [8]. Следует отметить, что наибольшее содержание суммы флавоноидов обнаружено в листьях с. обыкновенной и с. амурской (см. таблицу).

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности использования данной методики анализа листьев сирени методом спектрофотометрии при аналитической длине волны 412 нм в пересчете на рутин.

Выводы

1. Во всех электронных спектрах исследуемых образцов при добавлении спиртового раствора $AlCl_3$ отмечен bathochромный сдвиг длинноволновой полосы, что свидетельствует о вкладе флавоноидов в кривую поглощения УФ-спектров. В условиях дифференциальной спектрофотометрии наблюдается максимум поглощения в области 406–412 нм, что свидетельствует о целесообразности использования в методике анализа СО рутин, имеющего максимум поглощения при длине волны 412 ± 2 нм.
2. Определено, что содержание суммы флавоноидов в исследуемых образцах листьев с. обыкновенной, с. амурской, с. волосистой, с. мелколистной, с. Звегинцева и с. венгерской варьирует от 1,31 до 2,94 %.
3. Листья некоторых видов рода *Syringa* (с. обыкновенной, с. амурской) удовлетворяют установленным нами требованиям по содержанию суммы флавоноидов (не менее 2,5 %), являются перспективным видом ЛРС наряду с корой и могут служить источником флавоноидов и других биологически активных соединений.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018.
2. Климова И.Ю. Аналитические и технические исследования по разработке новых препаратов на основе коры сирени обыкновенной. Самара, 2005.
3. Куркин В.А., Маевская О.В., Браславский В.Б. и др. К вопросу о стандартизации лекарственного сырья, содержащего флавоноиды и фенилпропаноиды //

Применение хроматографии в пищевой, микробиологической и медицинской промышленности: материалы Всесоюзной конференции. Геленджик, 1990. С.85–86.

4. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019.
5. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Гриненко Н.А. Иридоиды коры *Syringa vulgaris* // Химия природных соединений. 1990. № 5. С. 695–697.
6. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Гриненко Н.А., Золотарев Б.М. Фенольные соединения коры *Syringa vulgaris* // Химия природных соединений. 1989. № 4. С. 581–582.
7. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Кривенчук П.Е. Флавоноиды и маннит из листьев *Syringa vulgaris* // Химия природных соединений. 1980. № 3. С. 418–419.
8. Серебрякова А.Д., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации листьев сирени обыкновенной // Аспирантский вестник Поволжья. 2020. № 1–2. С. 158–163. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.158-163
9. Патент RU2752316C1/26.07.2021. Серебрякова А.Д., Куркин В.А. Способ количественного определения флавоноидов в листьях сирени обыкновенной.

References

1. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV ed. Moscow; 2018. (In Russ.)
2. Klimova IYu. Analiticheskie i tekhnicheskie issledovaniya po razrabotke novykh preparatov na osnove kory sireni obyknovennoy. Samara; 2005. (In Russ.)
3. Kurkin VA, Maevskaya OV, Braslavskiy VB, et al. K voprosu o standartizatsii lekarstvennogo syr'ya, soderzhazhchego flavonoidy i fenilpropanoidy. Proceedings of the All-Union Conference "Primenenie khromatografii v pishchevoy, mikrobiologicheskoy i meditsinskoj promyshlennosti". Gelendzhik; 1990. P. 85–86. (In Russ.)
4. Kurkin VA. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov. 4th ed. Samara; 2019. (In Russ.)
5. Kurkin VA, Zapesochnaya GG, Grinenko NA. Iridoidy kory *Syringa vulgaris*. Himiya prirodnykh soedinenij. 1990;(5):695–697. (In Russ.)
6. Kurkin VA, Zapesochnaya GG, Grinenko NA, Zolotarev BM. Fenol'nye soedineniya kory *Syringa vulgaris*. Himiya prirodnykh soedinenij. 1989;(4):581–582. (In Russ.)
7. Kurkin VA, Zapesochnaya GG, Krivenchuk PE. Flavonoidy i mannit iz list'ev *Syringa vulgaris*. Himiya prirodnykh soedinenij. 1980;(3):418–419. (In Russ.)
8. Serebryakova AD, Kurkin VA. The development of approaches to the standardization of the *Syringa vulgaris* leaves. *Aspirantskij vestnik Povolzhya*. 2020;(1–2):158–163. (In Russ.). DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.158-163
9. Patent RU2752316C1/26.07.2021. Serebryakova AD, Kurkin VA. Sposob kolichestvennogo opredeleniya flavonoidov v list'yakh sireni obyknovennoj. (In Russ.)

▪ **Информация об авторах**

Анастасия Дмитриевна Серебрякова — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: lazymoon93@mail.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Альберт Иванович Агапов — доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru

▪ **Information about the authors**

Anastasiya D. Serebryakova — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and the Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: lazymoon93@mail.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Albert I. Agapov — Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Chair of Medical Chemistry. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТА ГИМАТОМЕЛАНОВЫХ КИСЛОТ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПРОТИВОРЕВМАТОИДНОГО СРЕДСТВА

Н.П. Аввакумова, Е.Е. Катунина, М.А. Кривопалова, А.В. Жданова, М.Н. Глубокова, М.Н. Качалкин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
 «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
 Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Аввакумова Н.П., Катунина Е.Е., Кривопалова М.А., Жданова А.В., Глубокова М.Н., Качалкин М.Н. Показатели качества препарата гиматомелановых кислот как потенциального противоревматоидного средства // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 65–72. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.65-72>

Поступила: 21.06.2021

Одобрена: 23.07.2021

Принята: 06.09.2021

- В работе исследовали влияние одной из фракций гуминовых веществ пелоидов — гиматомелановых кислот — на течение ревматоидного артрита. Стандартизацию препарата проводили комплексом физико-химических методов анализа. Установлены элементный состав субстанции, а также ряд спектральных (ИК, ЯМР) характеристик. Определен перечень компонентов, образующихся в результате гидролиза исходного препарата, и их относительное содержание. Превалирующей составляющей гидролизата гиматомелановых кислот пелоидов являются жирные кислоты и их производные. Для проведения эксперимента выбрана модель адьювантного артрита и сформированы четыре группы лабораторных животных, которых выводили из эксперимента на 17, 21 и 26-е сутки. Морфологически исследовали ткани иммунокомпетентных органов — регионарных лимфатических узлов, селезенки. Гистологическая картина свидетельствует, что при моделировании ревматоидного артрита такие патологические изменения в иммунокомпетентных органах крыс, как отек паренхимы и стромы, склероз, утолщение стенок сосудов, развиваются во все сроки наблюдения. Получен перечень дескрипторов исследуемого препарата и установлено, что применение гиматомелановых кислот пелоидов в модели адьювантного артрита оказывает выраженное противовоспалительное действие, о чем свидетельствует нормализация морфофункционального состояния селезенки, регионарных лимфатических узлов и печени.
- **Ключевые слова:** стандартизация препарата; спектрометрия; хроматография; модель ревматоидного артрита; гиматомелановые кислоты пелоидов; морфологические исследования.

QUALITY INDICATORS OF HYMATOMELANIC ACIDS PREPARATION AS A POTENTIAL ANTI-RHEUMATOID AGENT

N.P. Avvakumova, E.E. Katunina, M.A. Krivopalova, A.V. Zhdanova, M.N. Glubokova, M.N. Kachalkin

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Avvakumova NP, Katunina EE, Krivopalova MA, Zhdanova AV, Glubokova MN, Kachalkin MN. Quality indicators of hymatomelanic acids preparation as a potential anti-rheumatoid agent. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):65–72. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.65-72>

Received: 21.06.2021

Revised: 23.07.2021

Accepted: 06.09.2021

- The article studies the influence of hymatomelanic acids, one of the fractions of humic substances of peloids, on the course of rheumatoid arthritis. This substance was standardized by using physicochemical analysis. The elemental composition of the substance as well as a number of spectral (IR, NMR) characteristics were revealed. The list of components formed as a result of hydrolysis of the initial preparation and their relative content was determined. Fatty acids and their derivatives are the predominant constituents of peloid hymatomelanic acid hydrolyzate. The tissues of immunocompetent organs including regional lymph nodes, spleen, and also rat liver were studied. For the experiment, a model of adjuvant arthritis was selected and four groups of animals were formed. They were withdrawn from the experiment on the 17, 21 and 26 day. The histological picture indicated that when modeling rheumatoid arthritis, such pathological changes in the immunocompetent organs of rats as edema of the parenchyma and stroma, sclerosis, thickening of the walls of blood vessels, develop during the whole period of observation. A list of descriptors of the studied drug was obtained and it was found that the use of peloid hymatomelanic acids in the model of adjuvant arthritis had a pronounced anti-inflammatory effect, as evidenced by the normalization of the morphofunctional state of the spleen, regional lymph nodes and liver.
- **Keywords:** drug standardization; spectrometry; chromatography; rheumatoid arthritis model; peloid hymatomelanic acids; morphological studies.

Обоснование

Ревматоидный артрит — хроническое аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии, проявляющееся прогрессирующей деструкцией суставов, системным воспалением внутренних органов [4]. Перспективным направлением в лечении ревматоидного артрита считается применение природных факторов [6], в частности, лечебных грязей, обладающих противовоспалительным эффектом. По мнению многих исследователей, терапевтическая ценность пелоидов обусловлена наличием в них специфических органических веществ гуминовой природы [1, 5]. Однако вопрос о терапевтической роли отдельных компонентов гуминовых веществ остается недостаточно изученным, что связано со сложностью их стандартизации. На сегодняшний день однозначно не определены как показатели качества, так и методы контроля качества гуминовых веществ пелоидов, которые зависят от источника извлечения и способа получения субстанций. Идентификационные характеристики, а также физико-химические свойства гуминовых веществ могут претерпевать существенную дивергенцию. Сказанное обуславливает актуальность как стандартизации терапевтически эффективных фракций гуминовых веществ, так и исследование характера их биологического действия на клеточном уровне.

Цель работы заключалась в стандартизации препарата на основе фракции специфических органических веществ пелоидов — гиматомелановых кислот (ГМК) — и обосновании их противовоспалительной активности в модели ревматоидного артрита.

Материалы и методы

ГМК выделяли из низкоминерализованных иловых сульфидных грязей санатория «Сергиевские минеральные воды» (Самарская область) по оригинальной методике [2]. Процесс получения включает стадию многократной очистки, что определяет экологическую чистоту полученного препарата. Проведенные ранее исследования показали, что ГМК пелоидов относятся к V классу токсичности [3]. Контроль качества ГМК осуществляли методами спектрометрии и хроматографии. ИК-спектры препарата получены на спектрометре Spectrum 100 (Perkin Elmer). Подготовку образцов к съемке проводили по технике прессования в форме таблеток с КВг. Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали с помощью спектрометра Bruker Avance-400

(400,13 и 100,62 мГц) в растворе D_2O . В качестве растворителя использовали дейтерированный 0,1 М раствор гидроксида натрия в тяжелой воде. Содержание углерода, водорода, азота и кислорода определяли с помощью анализатора фирмы Carlo Erba EA-1108 при температуре 1000 °С.

Для определения компонентов субстанции раствора ГМК с концентрацией 1,0 % (масс.) подвергали кислотному гидролизу. В круглодонную колбу с обратным холодильником помещали 10–15 мл 1,0 % раствора ГМК, добавляли равный объем 2,0 моль/л раствора хлороводородной кислоты и термостатировали при температуре 85 °С в течение 56–60 ч. Осадок отделяли фильтрованием, а полученные растворы обрабатывали 3–5 мл хлороформа. Экстракцию продуктов гидролиза проводили трехкратно. Полученные элюенты объединяли, высушивали на воздухе и растворяли в 100 мл гексана (квалификации «х. ч.»). Для анализа полученных проб использовали метод газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ-МС). ГХ-МС проводили на газовом хроматографе Agilent Technologies 5975 с масс-селективным детектором MSD 7890. Хроматографические пики сравнивали с библиотеками NIST 08 и Wiley 10th Edition 2013 г. Относительное содержание компонентов (%) в исследуемых фракциях рассчитывали на основании площади хроматографических пиков.

Для установления противовоспалительной активности исследуемого пелоидопрепарата *in vivo* выбрана модель ревматоидного артрита, который воспроизводили субплантарным введением в правую заднюю лапку крысы 0,1 мл адьюванта Фрейнда (взвесь БЦЖ в вазелиновом масле). Терапевтический эффект оценивали по результатам морфологических показателей, как наиболее объективных с точки зрения доказательной медицины. Гистологическому исследованию подвергали ткани иммунокомпетентных органов: регионарных лимфатических узлов, селезенки, печени.

Эксперимент проводили на белых беспородных крысах массой 180–200 г; животные были разделены на четыре группы: 1-я — контроль (здоровые крысы), 2-я — группа сравнения (крысы с адьювант-индуцированным артритом), 3-я — опытная группа (крысы с адьювант-индуцированным артритом, которых лечили препаратом ГМК), 4-я — здоровые животные, которым вводили ГМК.

Введение ГМК в виде 0,1 % водного раствора (рН = 7,4) начинали с 14-го дня после инъекции адьюванта и проводили ежедневно в течение 10 дней. Воспалительную реакцию

оценивали на 17, 21 и 26-е сутки от начала эксперимента (3, 7, 12-е сутки после введения ГМК). Животных выводили из эксперимента методом декапитации. Кусочки регионарных лимфатических узлов размером не более 0,5 см³ фиксировали в 10 % забуференном формалине, после чего заливали в парафин по стандартной методике. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Для статистической обработки данных использован *t*-критерий Стьюдента, как наиболее часто используемый метод обнаружения различий между средними значениями двух выборок с помощью пакета прикладных программ Statistica 8.0. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Элементный состав исследуемого препарата в мольных процентах указан в табл. 1.

На рис. 1 приведен ИК-спектр препарата ГМК, в котором присутствуют все характеристические полосы, отвечающие колебаниям карбоксильной группы (1715 см⁻¹), карбоксилат-иона (1630 см⁻¹), а также набор полос, соответствующих колебаниям связей в алифатических фрагментах (3600–3400 см⁻¹).

Качественно в ЯМР-спектре ГМК содержатся сигналы алифатических (0,6–1,7 м.д.), аллильных (1,8–2,8 м.д.), карбонильных (3,2–4,8 м.д.) и ароматических (6–9 м.д.) про-

Таблица 1 / Table 1

Элементный состав в мольных процентах
Elemental composition (mole percent)

| Определяемый элемент | мол.% |
|----------------------|-------|
| Углерод | 35,21 |
| Водород | 51,23 |
| Кислород | 17,08 |
| Азот | 1,50 |

тонов. Количественная оценка, осуществленная путем интегрирования площадей сигналов, доказывает, что в составе ГМК относительное содержание протонов убывает в ряду: карбонильные – алифатические – ароматические. Наличие в составе препарата атомов углерода карбонильного типа доказывается сигналами в области 170 и 210–225 м.д. В интервале 110–130 м.д. присутствует триплет, соответствующий атомам углерода как олефинового, так и Н-замещенного ароматического характера.

Анализ хлороформного экстракта гидролизата ГМК (рис. 2) позволил выявить и идентифицировать 30 компонентов. В хлороформный экстракт в основном входят глицерин, молочная и стеариновая кислоты. Установлено, что относительное содержание насыщенных жирных кислот составляет 26,67 %, ненасыщенных — 10,34 %, эфиров жирных кислот — 8,72 %. Общее содержание жирных

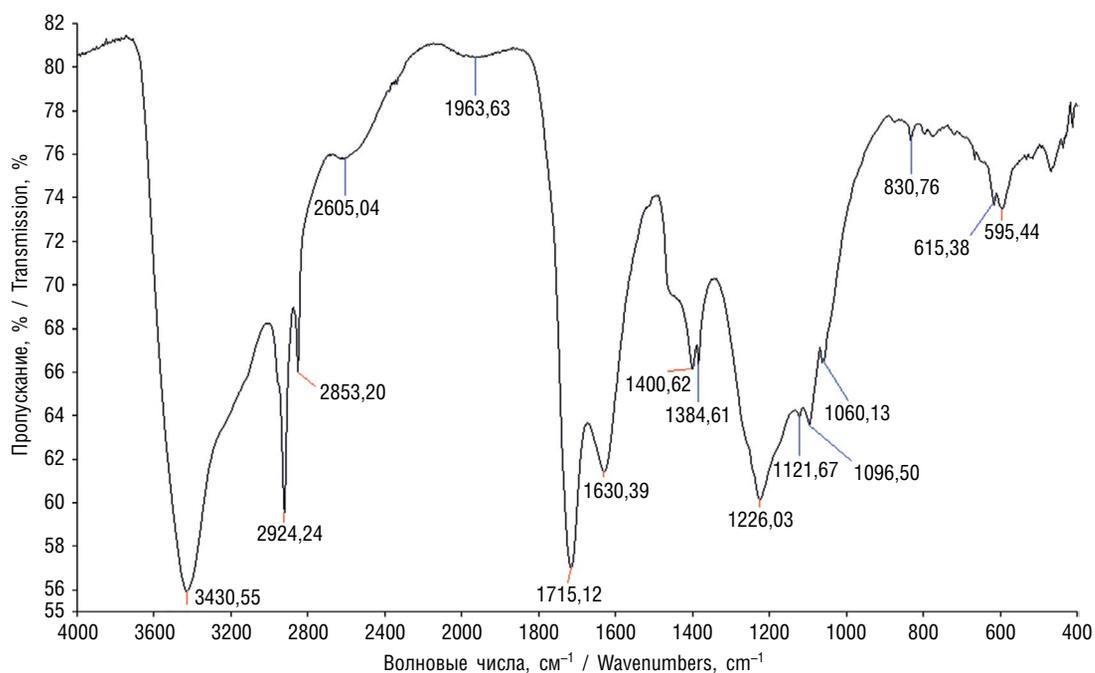


Рис. 1. Инфракрасный спектр гиаломелановых кислот

Fig. 1. IR spectrum of hyalomelanic acids

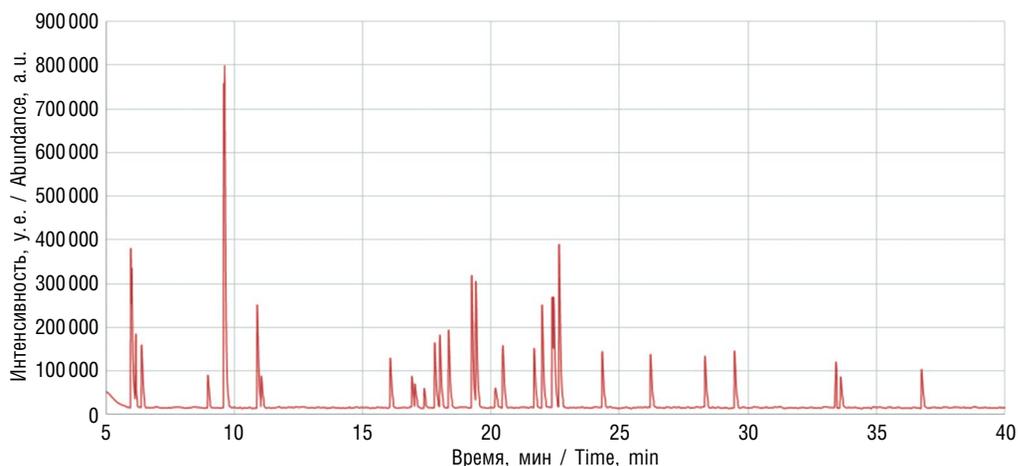


Рис. 2. Хроматограмма хлороформного экстракта гидролизата гиматомелановых кислот

Fig. 2. Chromatogram of chloroform hydrolysate extract of hymatomelanic acid

кислот и их производных в гидролизате составило 45,73 %. Следует отметить присутствие соединений ароматического характера, таких как ванилиновая кислота, фталиевая кислота и ее производные и других веществ, общее содержание которых составляет 10,27 %. В составе гидролизата фракция жирных спиртов представлена в количестве 12,23 %.

При введении здоровым животным гиматомелановых кислот во всех изучаемых органах гистологические изменения находились в пределах физиологической нормы.

В результате введения адьюванта Фрейнда у крыс проявляется ярко выраженная воспалительная реакция сустава правой лапы — она опухает, животное ограничивает себя в движениях. При вскрытии было зафиксировано, что регионарный лимфатический узел на стороне поражения несколько увеличен по сравнению с лимфоузлами здоровых крыс.

Патоморфологическое исследование ткани регионарных лимфатических узлов показало значительные изменения у крыс с адьювантным артритом. Капсула резко отечна и за счет этого утолщена и мутного вида. Характерно резкое расширение субкапсулярных синусов и краевое стояние гранулоцитов в них. Лимфатические узелки в корковом веществе разного размера, в то время как у здоровых крыс они преимущественно одинаковые. В герминативных центрах обнаруживаются крупные макрофаги. Паракортикальная зона несколько расширена по сравнению с нормой. Синусы мозгового вещества расширены и плотно заполнены клетками, среди которых много лимфоцитов и плазматических клеток. Стенки трабекулярных артерий утолщены за счет плазматического пропитывания, в результате чего просветы заметно сужаются.

К 21-м суткам утолщение капсулы нарастает за счет начавшегося склерозирования. Количество узелков с герминативными центрами немного уменьшается, вместе с тем увеличиваются их размеры в некоторых узелках, паракортикальная зона остается расширенной, но граница между ней и корковым веществом становится нечеткой.

К 26-м суткам размеры субкапсулярных синусов и синусов мозгового вещества уменьшаются, однако сохраняется плазматическое пропитывание стенок трабекулярных и центральных артерий. В лимфатических узелках коркового вещества обнаруживаются только мелкие герминативные центры.

Лимфатический узел на стороне, противоположной введению адьюванта, не остается неизменным (интактным), ткань его несколько отечна. Лимфатические узелки крупные, равномерные с герминативными центрами, в которых хорошо различимы лимфобластные элементы и крупные макрофаги. Синусы всего узла несколько расширены с увеличившимся в них числом плазматитов.

Применение гиматомелановых кислот пеллоидов в значительной степени купирует воспалительный процесс. При внешнем осмотре животного уже на третьи сутки введения ГМК (17-е сутки эксперимента) мы отмечали уменьшение отека сустава, крыса начала пользоваться пораженной конечностью. На 7-е сутки лечения (21-е сутки эксперимента) полностью восстанавливается объем движения животных, отек спадает, внешне крысы не отличаются от группы контроля.

Изучение гистологических препаратов показывает, что в регионарных лимфатических узлах на третьи сутки лечения отек капсулы и стромы несколько слабее, чем в группе

Таблица 2 / Table 2

Изменение толщины капсул лимфатических узлов, мкм
The change of thickness of lymphatic nodes capsules, μm

| Лимфоузел | | Серия | | | |
|-----------|------------|-------------|------------------------|--------------------|-------------|
| | | I норма | II контроль (адьювант) | III адьювант + ГМК | IV ГМК |
| Правый | 17-е сутки | 2,62 ± 0,12 | 8,54 ± 0,19* | 6,22 ± 0,14*.** | 4,02 ± 0,15 |
| | 21-е сутки | 2,50 ± 0,12 | 9,70 ± 0,14* | 6,04 ± 0,11*.** | 3,51 ± 0,08 |
| | 26-е сутки | 2,53 ± 0,12 | 7,74 ± 0,13* | 4,67 ± 0,14*.** | 3,24 ± 0,10 |
| Левый | 17-е сутки | 2,52 ± 0,11 | 2,86 ± 0,09 | 2,65 ± 0,27 | 2,68 ± 0,19 |
| | 21-е сутки | 2,58 ± 0,13 | 2,80 ± 0,11 | 2,83 ± 0,11 | 2,68 ± 0,14 |
| | 26-е сутки | 2,54 ± 0,12 | 2,47 ± 0,12 | 2,62 ± 0,30 | 2,68 ± 0,14 |

Примечание. Здесь и в табл. 3–6. * Статистически значимые отличия показателей от нормативных ($p < 0,05$); ** статистически значимые отличия показателей от контрольных ($p < 0,05$). ГМК — гиматомелановые кислоты.

Note. Here and in Table 3-6. * Statistically significant differences of the data as compared to regulatory limit ($p < 0,05$); ** statistically significant differences of the data as compared to control limits ($p < 0,05$).

Таблица 3 / Table 3

Количество лимфатических узелков с герминативными центрами в лимфатических узлах крыс, %
The number of lymphatic nodules with germinal centers in the lymphatic nodes of rats, %

| Лимфоузел | | Серия | | | |
|-----------|------------|--------------|------------------------|--------------------|---------------|
| | | I норма | II контроль (адьювант) | III адьювант + ГМК | IV ГМК |
| Правый | 17-е сутки | 25,75 ± 1,15 | 84,51 ± 2,76* | 66,2 ± 1,81*.** | 38,71 ± 0,90 |
| | 21-е сутки | 24,53 ± 2,04 | 76,92 ± 3,54* | 59,46 ± 2,19*.** | 43,64 ± 1,28* |
| | 26-е сутки | 24,59 ± 0,75 | 69,35 ± 1,18* | 44,78 ± 1,13** | 34,18 ± 0,56 |
| Левый | 17-е сутки | 23,73 ± 0,92 | 62,71 ± 1,53* | 61,29 ± 2,03* | 29,85 ± 1,89 |
| | 21-е сутки | 23,33 ± 1,22 | 65,15 ± 1,37* | 46,43 ± 1,56* | 33,80 ± 0,82 |
| | 26-е сутки | 25,86 ± 0,86 | 72,73 ± 1,15* | 35,00 ± 1,06** | 33,33 ± 0,79 |

сравнения, и по мере лечения продолжает уменьшаться (табл. 2). Если толщина капсулы у крыс с хроническим иммунным воспалением на 17, 21 и 26-е сутки эксперимента в среднем составляет 8,54, 9,7 и 7,74 мкм, то при лечении этот показатель уменьшается до 6,43, 6,04 и 4,67 мкм соответственно (табл. 2).

К 12-м суткам от начала введения ГМК (26-е сутки эксперимента) проявление отека значительно меньше, чем в группе сравнения, однако полное восстановление структуры лимфоузла у животных пока не происходит. Восстанавливается соотношение зон органа, уменьшается плазматическое пропитывание стенок центральных и трабекулярных артерий, что предотвращает сужение их просвета.

Количество узелков с герминативными центрами имеет явную тенденцию к нормализации: к 26-м суткам эксперимента этот

показатель, превышая контрольные цифры, значительно ниже, чем при адьювантном артрите (табл. 3).

Селезенка у животных с адьювантным артритом на 17-е сутки эксперимента набухшая, капсула утолщена и мутноватая. При гистологических исследованиях также отмечен резкий отек тканей органа. На 21-е сутки мы наблюдаем наиболее ярко выраженные изменения в селезенке, вызванные введением адьюванта Фрейнда (табл. 4, 5).

Характерно плазматическое пропитывание стенок центральных и трабекулярных артерий, в результате чего стенки утолщены, слой их плохо различимы; просветы артерий сужены. Вместе с тем отмечается резкое расширение и венозное полнокровие отдельных сосудов. Венозные синусы переполнены эритроцитами. Отмечаются разрывы стенок синусов

Таблица 4 / Table 4

Изменение толщины капсулы селезенки на модели адьювантного артрита, мкм
The change in the width of splenic capsule on the model of adjuvant arthritis, μM

| Серия | 17-е сутки | 21-е сутки | 26-е сутки |
|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| I норма | 1,67 ± 0,11 | 1,67 ± 0,09 | 1,55 ± 0,10 |
| II контроль (адьювант) | 8,3 ± 0,14* | 9,11 ± 0,12* | 6,13 ± 0,13* |
| III адьювант + ГМК | 5,86 ± 0,13*,** | 4,43 ± 0,14*,** | 3,21 ± 0,09*,** |
| IV ГМК | 2,83 ± 0,11 | 2,20 ± 0,09 | 1,67 ± 0,10 |

Таблица 5 / Table 5

Относительное содержание лимфатических узелков с центрами размножения в селезенке, %
Relative level of lymphatic nodules with germinal center in the spleen, %

| Серия | 17-е сутки | 21-е сутки | 26-е сутки |
|------------------------|----------------|----------------|-------------|
| I норма | 31,33±1,13 | 31,88±0,32 | 31,99±0,06 |
| II контроль (адьювант) | 79,63±0,51* | 80,26±0,98* | 63,64±0,89* |
| III адьювант + ГМК | 60,38±1,61*,** | 60,27±0,97*,** | 48,72±2,07 |
| IV ГМК | 45,88±1,06 | 43,75±0,47 | 29,07±1,27 |

с имбибированием эритроцитами красной пульпы и маргинальной зоны. Трабекулы утолщены за счет отека, лимфоидные узелки преимущественно крупные, увеличивается число узелков с крупными герминативными центрами.

Морфологические изменения, так же как и в лимфатических узлах, максимально выражены на 21-е сутки. Нарастает отек капсулы и размеры субкапсулярных синусов, увеличивается имбибирование коркового вещества эритроцитами. Лимфоидные узелки крупные, с большими центрами размножения и широкой краевой зоной.

К 26-м суткам отек капсулы селезенки несколько спадает, фолликулы разного размера с очень крупными центрами. Границы отдельных фолликулов нечеткие. Происходит огрубение коллагеновых тканей волокон в трабекулах.

При осмотре селезенки животных, которым вводили гиматомелановые кислоты на фоне адьювантного артрита, отмечается некоторое ее набухание, однако оно было менее выраженным, чем у крыс из группы сравнения.

На третьей сутки введения гиматомелановых кислот (17-е сутки эксперимента) гистологические исследования показали, что отек капсулы и стромы органа слабее по сравнению с животными второй серии, центральные и трабекулярные артерии умеренно сужены, с несколько утолщенной за счет плазматического пропитывания стенкой. Некоторые синусы «переполнены» эритроцитами; на-

блюдается имбибирование ими отдельных участков красной пульпы. Характерно увеличение количества крупных макрофагов в синусах, много плазматических клеток и эозинофилов, многие макрофаги содержат гемосидерин. Преимущественно в области ворот, в том числе под капсулой, — скопление кроветворных клеток.

На 21-е сутки у животных третьей серии характерна мозаичность изменений в селезенке: в некоторых участках наряду с очагами выраженных воспалительных изменений наблюдаются участки органа, в которых структура изменена незначительно. Особенно хорошо это заметно на примере центральных артерий: некоторые из них с очень узким просветом и толстой стенкой, у других стенка незначительно утолщена и размер просвета не отличается от здоровых животных. В мозговом веществе можно видеть очаговые кровоизлияния и увеличение количества эритроцитов в синусах, в центральных наблюдается много макрофагов, нагруженных гемосидерином.

К концу наблюдения (26-е сутки) отек и расширение синусов незначительны. В синусах больше, чем в норме, эритроцитов, они располагаются по периферии синусов. Лимфоидные узелки преимущественно небольшие, с мелкими герминативными центрами.

Введение адьюванта Фрейнда провоцирует нарушение структуры долек печени. Во многих долях трабекулярное строение нарушено, клетки приобретают овальную

Таблица 6 / Table 6

Относительное содержание двуядерных клеток в печени (на 200 гепатоцитов), %
Relative level of binuclear cells in the liver (per 200 hepatocytes), %

| Серия | 17-е сутки | 21-е сутки | 26-е сутки |
|------------------------|------------------|------------------|--------------|
| I норма | 1,83 ± 0,17 | 1,83 ± 0,17 | 1,83 ± 0,17 |
| II контроль (адьювант) | 2,33 ± 0,17 | 2,17 ± 0,17 | 2,33 ± 0,17 |
| III адьювант + ГМК | 4,33 ± 0,17*, ** | 4,67 ± 0,33*, ** | 3,33 ± 0,17* |
| IV ГМК | 3,17 ± 0,33* | 3,17 ± 0,17* | 2,83 ± 0,33 |

или округлую форму, размеры большинства клеток увеличены. Границы между клетками определяются нечетко, цитоплазма имеет мутный вид, ядра разного размера. Характерно разнообразие в размерах и структурах ядер: встречаются крупные светлые ядра, хроматин в которых расположен по периферии под нуклеолеммой; есть клетки с ядрами в состоянии пикноза и рексиса. В отдельных дольках можно видеть микроучастки некроза, инфильтрованные лимфоцитами, отдельными плазматическими клетками и макрофагами.

Центральные вены и вены триад застойны, вокруг центральных вен наблюдается «кольцо отека», в области триад — склероз, плазматическое пропитывание стенок артериол.

На 21-е сутки застой в центральных венах сохраняется, вокруг них появляются зрелые коллагеновые волокна. Поля склероза вокруг триад увеличиваются. На 26-е сутки к наблюдаемым раньше изменениям присоединяется развитие соединительной ткани по периферии долек, увеличивается количество двуядерных гепатоцитов (табл. 6).

У животных, которым вводили гиматомелановые кислоты, в печени сохраняется структура большинства долек, отсутствуют некрозы, а явления кариопикноза и кариорексиса единичны. Застой в центральных венах и венах триад на 17-е сутки умеренный, а к концу наблюдения можно видеть лишь одиночные застойные вены. Характерно значительное увеличение количества двуядерных клеток как по сравнению с нормой, так и с животными, которым не вводили препарат, уже с 17-х суток наблюдения. Это увеличение максимально на 21-е сутки и сохраняется до конца наблюдения на фоне адьювантного артрита.

Выводы

Идентификационные характеристики ГМК пелоидов, полученные комплексом физико-химических методов, дополняют перечень дескрипторов и могут использоваться для контроля качества исследуемого препарата.

По результатам морфометрического исследования при лечении ревматоидного артрита гиматомелановые кислоты проявляют терапевтический эффект, нарастающий с увеличением курсовой дозы. Максимальный противовоспалительный эффект препарата был выявлен к 26-м суткам эксперимента. Анализ гистологических препаратов исследуемых органов объективно доказывает выраженное противовоспалительное действие пелоидо-препаратов на основе гиматомелановых кислот при хроническом аутоиммунном воспалении.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» (№ 2 от 16.09.2020).

Список литературы

1. Аввакумова Н.П., Мизина П.Г., Кривопалова М.А. и др. Противовоспалительная активность гуминовых кислот пелоидов // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2018. Т. 21, № 6. С. 33–37.
2. Патент RU 2641046 C1/15.01.2018. Аввакумова Н.П., Кривопалова М.А., Катунина Е.Е., Глубокова М.Н. Способ получения препарата на основе гиматомелановых кислот низкоминерализованных иловых сульфидных грязей.
3. Бадмаева К.Е., Абушинова Н.Н., Теплый Д.Л. Противовоспалительные эффекты илово-сульфидных пелоидов на экспериментальной модели адьювантного артрита у крыс // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2019. Т. 14, № 1–2. С. 152–155. DOI: 10.14300/mnnc.2019.14003
4. Насонов Е.Л., Лиля А.М. Ревматоидный артрит: достижения и нерешенные проблемы // Терапевтический архив. 2019. Т. 91, № 5. С. 4–7. DOI: 10.26442/00403660.2019.05.000259
5. Савченко И.А., Корнеева И.Н., Лукша Е.А., Пасечник К.К. Биологическая активность гуминовых ве-

- ществ: перспективы и проблемы их применения в медицине (обзор) // Журнал МедиАль. 2019. № 1(23). С. 54–60. DOI: 10.21145/2225-0026-2019-1-54-60
6. Шевелева Н.И., Минбаева Л.С. Современный взгляд на проблему реабилитации патологии суставов // Клиническая медицина Казахстана. 2016. № 2(40). С. 6–13.

References

1. Avvakumova NP, Mizina PG, Krivopalova MA, et al. Anti-inflammatory activity of humic acids of peloids. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2018;21(6):33–37. (In Russ.)
2. Patent RU 2641046 C1/15.01.2018. Avvakumova NP, Krivopalova MA, Katunina YeY, Glubokova MN. Method for obtaining of preparation based on humatomelanolic acids of low-mineralised silt sulphidic muds. (In Russ.)
3. Badmaeva KE, Abushinova NN, Tepy DL. Antiinflammatory effects of silt-sulphide peloids on the experimental model “adjuvant arthritis” in rats. *Medical News of North Caucasus*. 2019;14(1–2):152–155. (In Russ.). DOI: 10.14300/mnnc.2019.14003
4. Nasonov EL, Lila AM. Rheumatoid arthritis: achievements and unresolved issues. *Therapeutic Archive*. 2019;91(5):4–7. (In Russ.). DOI: 10.26442/00403660.2019.05.000259
5. Savchenko IA, Korneeva IN, Luksha EA, Pasechnik KK. Biological activity of humic substances: prospects and problems of their application in medicine. *Journal MediAl*. 2019;(1(23)):54–60. (In Russ.). DOI: 10.21145/2225-0026-2019-1-54-60
6. Sheveleva NI, Minbaeva LS. The modern view on the problem of joint pathology rehabilitation. *Clinical Medicine of Kazakhstan*. 2016;(2(40)):6–13. (In Russ.)

■ Информация об авторах

Надежда Петровна Аввакумова — доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: n.p.avvakumova@samsmu.ru

Елена Евгеньевна Катунина — кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: e.e.katunina@samsmu.ru

Мария Ариевна Кривопалова — кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: m.a.krivopalova@samsmu.ru

Алина Валитовна Жданова — кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.v.zhdanova@samsmu.ru

Мария Николаевна Глубокова — кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: m.n.glubokova@samsmu.ru

Максим Николаевич Качалкин — ассистент кафедры химии института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: m.n.kachalkin@samsmu.ru

■ Information about the authors

Nadezhda P. Avvakumova — Doctor of Biological Sciences, Head of Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: n.p.avvakumova@samsmu.ru

Elena E. Katunina — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: e.e.katunina@samsmu.ru

Maria A. Krivopalova — Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: m.a.krivopalova@samsmu.ru

Alina V. Zhdanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.v.zhdanova@samsmu.ru

Maria N. Glubokova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: m.n.glubokova@samsmu.ru

Maksim N. Kachalkin — Teaching Assistant, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: m.n.kachalkin@samsmu.ru

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛАЖНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ОТДЕЛЬНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП ИНФРАКРАСНЫМ ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧЕСКИМ СПОСОБОМ

Д.А. Жданов, В.Б. Браславский, В.А. Куркин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Жданов Д.А., Браславский В.Б., Куркин В.А. Разработка методик определения влажности лекарственного растительного сырья отдельных морфологических групп инфракрасным термогравиметрическим способом // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 73–77. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.73-77>

Поступила: 04.08.2021

Одобрена: 27.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ Статья посвящена разработке новых, перспективных для включения в Государственную фармакопею Российской Федерации, методик определения влажности инфракрасным термогравиметрическим способом 23 фармакопейных видов воздушно-сухого лекарственного растительного сырья 7 отдельных морфологических групп (корни, кора, листья, плоды, семена, травы, цветки). На основании полученных результатов подготовлены предложения по изменению и дополнению фармакопейных статей Государственной фармакопеи Российской Федерации.

▪ **Ключевые слова:** лекарственное растительное сырье; влажность; инфракрасный термогравиметрический способ; Государственная фармакопея Российской Федерации.

DETERMINATION OF INFRARED THERMOGRAVIMETRIC MOISTURE (LOSS ON DRYING) FOR DIFFERENT MORPHOLOGICAL GROUP OF MEDICINAL PLANT RAW MATERIALS: DEVELOPMENT THE TECHNIQUES

D.A. Zhdanov, V.B. Braslavskii, V.A. Kurkin

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Zhdanov DA, Braslavskii VB, Kurkin VA. Determination of infrared thermogravimetric moisture (loss on drying) for different morphological group of medicinal plant raw materials: Development the techniques. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):73–77. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.73-77>

Received: 04.08.2021

Revised: 27.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ The article is devoted to the development of new moisture (loss on drying) determination techniques by infrared thermogravimetric method. This method is aimed at 23 pharmacopoeial types of air-dry medicinal plant raw materials of 7 morphological groups (roots, bark, leaves, fruits, seeds, herbs, flowers). These techniques can be included into the State Pharmacopoeia of the Russian Federation. The obtained results allow to develop the project proposals concerning the changes and the supplementation of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation monographs.

▪ **Keywords:** medicinal plant raw materials; moisture (loss on drying); infrared thermogravimetric method; State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Введение

В настоящее время выпускается и находится на различных этапах разработки огромное количество лекарственных средств (ЛС). Наряду с синтетическими, значительное место на фармацевтическом рынке занимают ЛС, изготовленные на основе лекарственного растительного сырья (ЛРС). Это связано с тем,

что растительные препараты сочетают в себе достаточно высокую активность, биологическую доступность и широту терапевтического воздействия с относительной безопасностью и достаточно мягким воздействием на организм пациента. Именно поэтому они широко применяются в медицине, в том числе при беременности и лактации [1].

Основной современный документ, предъявляющий требования к качеству ЛРС и препаратов на его основе, — Государственная фармакопея Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания [2]. Актуальным направлением фармакогнозии с точки зрения доказательной медицины и безопасности ЛС представляется разработка и совершенствование методов их контроля качества и стандартизации, что подчеркивает Федеральный закон № 61-ФЗ, согласно которому общие (ОФС) и частные фармакопейные статьи (ФС) ГФ РФ пересматриваются с учетом новых научно-технических достижений в области методов анализа ЛС для медицинского применения [3].

Первоочередным показателем, контролируемым в начале фармакопейного анализа, наряду с подлинностью, является «Влажность» [2]. Отечественная ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XIV издания — единственная среди мировых изданий фармакопеи указывает на возможность использования современных автоматических анализаторов влажности, что значительно облегчает анализ благодаря значительному сокращению времени, трудо- и энергозатрат [2]. Однако до сих пор инфракрасный термогравиметрический (ИК ТГ) метод определения влажности ЛРС с использованием автоматических анализаторов не внедрен в мировую фармацевтическую практику.

Актуальность выполненного исследования обусловлена несколькими причинами: во-первых, ИК ТГ способ определения влажности достаточно широко применяется в различных отраслях промышленности, как в нашей стране, так и за рубежом [4, 5]; во-вторых, у провизора-аналитика должна быть возможность выбора способа определения влажности ЛРС на основании требований нормативной документации и оснащения лаборатории. Поэтому исходя из преимуществ ИК ТГ способа, на наш взгляд, его необходимо внедрить в фармакопейную практику в качестве альтернативного (дополнительного), наряду с классическим воздушно-тепловым.

Цель исследования — разработка методики определения влажности фармакопейных видов воздушно-сухого ЛРС отдельных морфологических групп ИК ТГ способом.

Результаты и их обсуждение

Обзор литературных данных показал, что главным недостатком является тот факт, что ИК ТГ методики не разработаны для оцен-

ки качества именно ЛРС, используемого в фармации и медицине [2, 6].

Объектами исследования стали образцы 23 фармакопейных видов воздушно-сухого ЛРС 7 различных морфологических групп, заготовленные на территориях Самарской, Оренбургской и Воронежской областей, Краснодарского края, Республики Марий Эл и Чувашской Республики в период с 2017 по 2020 г., а также промышленные образцы в виде лекарственных растительных препаратов различных производителей и серий.

Определение влажности исследуемых видов ЛРС проводили параллельно двумя способами: фармакопейным — воздушно-тепловым с использованием сушильных шкафов с температурой нагрева 100–105 °С [электрический круглый 2В-15 (СССР), ШС-80-01МК СПУ (Россия)] и ИК ТГ с использованием автоматических анализаторов влажности с задаваемой температурой нагрева 103 °С [Sartorius MA-150, Sartorius MA-35 (Германия), ViBRA MD-83 (Япония)].

Первым этапом разработки методик был предварительный отбор значений степеней измельчения ЛРС, который основывался, в первую очередь, на требованиях разделов ФС «Определение основных групп биологически активных веществ» и «Количественное определение» к степени измельчения. Кроме того, в обязательном порядке нами учтены требования ФС в разделе «Измельченность сырья». Второй этап заключался в выборе оптимальной навески анализируемой пробы измельченного ЛРС. Критерием выбора минимально допустимой массы навески служило полное и равномерное покрытие измельченной пробой всей площади поверхности дна алюминиевой кюветы. Максимально допустимую массу навески определяли нахождением баланса между воспроизводимостью и условной достоверностью величины показателя влажности, а также временем, затраченным на анализ.

Следует подчеркнуть, что важным условием прецизионного анализа является температура окружающей среды, которая, по нашим данным, должна находиться в пределах 23 ± 3 °С при стандартной влажности воздуха (50–60 %). Более того, после калибровки весоизмерительной системы, прибор необходимо вывести «на режим» путем высушивания отработанной навески ЛРС (холостой пробы). Нами определено, что результат анализа после первого включения или длительного простоя в режиме ожидания всегда завышен, поэтому для прецизионных измерений не следует допускать более длительных временных затрат,

чем требуется для остывания нагревательного блока до температуры окружающей среды (23 ± 3 °С). Несмотря на наличие запрограммированного режима предварительного прогрева с поддержанием постоянной температуры внутри сушильной камеры (минимально задаваемое значение — 40 °С), холодная проба предпочтительнее, так как более высокая температура внутри сушильной камеры будет стимулировать высушивание уже на этапе распределения навески ЛРС, что особенно критично для эфиромасличного сырья, когда потеря веса регистрируется прибором начиная с 27 °С.

Таблица / Table

Оптимальные значения степеней измельчения и массы навесок воздушно-сухого лекарственного растительного сырья для определения влажности инфракрасным термогравиметрическим способом с использованием анализатора влажности с керамическим нагревательным элементом

Optimal values of the grinding degrees and samples weight of the air-dry medicinal plant raw material for moisture determination by infrared thermogravimetric method with the use of the moisture analyzer with a ceramic heating element

| Номер ФС ГФ РФ XIV издания | Вид | Степень измельчения, мм | Навеска, г |
|-------------------------------|--|----------------------------|------------|
| ФС.2.5.0001.15 | Аллея корни (<i>Althaeae radices</i>) | 2 | около 3 |
| ФС.2.5.0057.18 | Аниса обыкновенного плоды (<i>Anisi vulgaris fructus</i>) | 1 | 4,5 ± 0,5 |
| ФС.2.5.0005.15 | Березы листья (<i>Betulae folia</i>) | 2 | около 2 |
| ФС.2.5.0070.18 | Девясила высокого корневища и корни (<i>Inulae helenii rhizomata et radices</i>) | 1 | около 2,5 |
| ФС.2.5.0071.18 | Дуба кора (<i>Quercus cortex</i>) | 1 | около 2 |
| ФС.2.5.0012.15 | Душицы обыкновенной трава (<i>Origanum vulgare herba</i>) | 1 | около 2 |
| ФС.2.5.0015.15 | Зверобоя трава (<i>Hyperici herba</i>) | 1 | около 2 |
| ФС.2.5.0030.15 | Календулы лекарственной цветки (<i>Calendulae officinalis flores</i>) | 0,5 | около 2 |
| ФС.2.5.0018.15 | Кориандра посевного плоды (<i>Coriandri sativi fructus</i>) | 1 | 4,5 ± 0,5 |
| ФС.2.5.0021.18 | Крушины ольховидной кора (<i>Frangulae alni cortex</i>) | 1 | около 2 |
| ФС.2.5.0024.15 | Липы цветки (<i>Tiliae flores</i>) | 1 | около 1 |
| ФС.2.5.0026.15 | Льна посевного семена (<i>Lini usitatissimi semina</i>) | 2 | около 5 |
| ФС.2.5.0029.15 | Мяты перечной листья (<i>Menthae piperitae folia</i>) | 2 | около 1,5 |
| ФС.2.5.0031.15 | Пижмы обыкновенной цветки (<i>Tanacetum vulgare flores</i>) | 1 | около 2,5 |
| ФС.2.5.0032.15 | Подорожника большого листья (<i>Plantaginis majoris folia</i>) | 1 | около 1,5 |
| ФС.2.5.0035.15 | Расторопши пятнистой плоды (<i>Silybi mariani fructus</i>) | 2–3 | 10,0 ± 1,0 |
| ФС.2.5.0037.15 | Ромашки аптечной цветки (<i>Chamomillae recutita flores</i>) | 2 | около 1,5 |
| ФС.2.5.0040.15 | Солодки корни (<i>Glycyrrhizae radices</i>) | 0,2 | около 1 |
| ФС.2.5.0098.18 | Тмина обыкновенного плоды (<i>Cari carvi fructus</i>) | 1 | 4,5 ± 0,5 |
| ФС.2.5.0043.15 | Укропа пахучего плоды (<i>Anethi graveolentis fructus</i>) | 1 | 4,5 ± 0,5 |
| ФС.2.5.0102.18 | Фенхеля обыкновенного плоды (<i>Foeniculi vulgaris fructus</i>) | 1 | 4,5 ± 0,5 |
| ФС.2.5.0106.18 | Шиповника плоды (<i>Rosae fructus</i>) | 5 | около 5 |
| ФС.2.5.0055.15 | Эхинацеи пурпурной трава (<i>Echinaceae purpureae herba</i>) | 0,5 | около 1 |

Примечание. ГФ РФ — Государственная фармакопея Российской Федерации.

Note. GPh RF is the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

анализаторов влажности с различными нагревательными элементами, а также оценке возможности их использования для определения влажности ЛРС морфологической группы «Почки» (березы, сосны обыкновенной, тополя) и некоторых свежих видов сырья (плодов боярышника и шиповника).

По итогам проведенных серий экспериментов по определению влажности с использованием автоматических анализаторов с различными нагревательными элементами установлено, что приборы с керамическим нагревательным элементом (Sartorius MA-150, Германия) и инфракрасным карбоновым конвектором с полимерным напылением (ViBRA MD-83, Япония) более предпочтительны для работы с ЛРС и лекарственными растительными препаратами, так как высушивание проходит в «щадящем» режиме без разложения анализируемой пробы. Определено, что ИК ТГ способ нецелесообразно использовать для определения влажности некоторых видов ЛРС морфологической группы «Почки» (березы, тополя и сосны), так как высокое содержание смолистых веществ приводит к спеканию частиц навески аналитической пробы между собой и с поверхностью кюветы, что препятствует нормальному испарению влаги. Определение влажности некоторых видов свежего сырья, в частности, сочных плодов (боярышника и шиповника) оказалось пока невозможным в связи с программным ограничением настроек ИК ТГ анализатора из-за продолжительности анализа.

На основании полученных результатов нами подготовлены предложения по изменению и дополнению ОФС.1.1.0005.15 «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и ОФС.1.5.3.0007.15 «Определение влажности лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов», а именно: сокращено количество отбираемых аналитических проб путем объединения аналитических проб для определения влажности и золы, и действующих веществ (аналитическая проба для определения влажности, содержания золы и действующих веществ); наряду с воздушно-тепловым способом определения влажности добавлен ИК ТГ способ определения влажности воздушно-сухого ЛРС с использованием автоматического анализатора влажности с керамическим нагревательным элементом; указаны основные требования к рабочему месту, настройке и работе с автоматическим анализатором, методика определения влажности [2].

Предложения по внесению в частные фармакопейные статьи (пункт «Влажность» раздела «Испытания») на исследованные виды воздушно-сухого ЛРС заключаются в уточнении параметров подготовки пробы для определения влажности ИК ТГ способом с использованием автоматического анализатора с керамическим нагревательным элементом [2].

Заключение

Таким образом, определены оптимальные параметры подготовки проб (степень измельчения и масса навески) и разработаны методики определения влажности 23 фармакопейных видов воздушно-сухого ЛРС 7 различных морфологических групп ИК ТГ способом с использованием автоматического анализатора влажности с керамическим нагревательным элементом, заключающиеся в указании оптимальных параметров степени измельчения и массы навески, режима анализа: автоматический режим, температура сушильной камеры 103 °С без предварительного прогрева, ежедневная калибровка с последующей юстировкой весоизмерительной системы, проведение холостой пробы и остывание прибора до температуры 23 ± 3 °С, распределение подготовленной аналитической пробы равномерным слоем по всей поверхности дна металлической кюветы.

Внедрение ИК ТГ методик в ГФ РФ позволит значительно сократить трудо- и энергозатраты, продолжительность и погрешность определения.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Корсун В.Ф., Корсун Е.В. Фитотерапия. Традиции Российского травничества. М.: Эксмо, 2010.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание // Федеральная электронная медицинская библиотека (ФЭМБ). Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>.
3. Федеральный закон от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». Режим доступа: <https://rg.ru/2010/04/14/lekarstva-dok.html>. (In Russ.) Дата обращения: 03.08.2021.
4. ГОСТ Р 8.626–2006. Государственная система обеспечения единства измерений. Изделия конденсаторные сахаристые. Инфракрасный термогравиметрический метод определения влажности. М.: Стандартинформ, 2012.
5. ASTM D6980-12. Standard Test Method for Determination of Moisture in Plastics by Loss in Weight

[Электронный ресурс] // ASTM (American Society for Testing and Materials) International. Режим доступа: <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/D6980-12.htm>. Дата обращения: 03.08.2021.

6. Антонова Н.П., Моргунов И.М., Прохвятилова С.С. и др. Применение альтернативного метода определения влажности в лекарственных растительных препаратах // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2017. Т. 7, № 3. С. 182–185.
3. Federal Law of Russian Federation N 61-FZ of 12 April 2010. "Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv". Available from: <https://rg.ru/2010/04/14/lekarstva-dok.html>. (In Russ.) Accessed: 2021 Aug 3.
4. State system for enshuring the uniformity of measurements. Saccharine confectionery. Infrared thermogravimetric method of moisture content determination. Moscow: Standartinform; 2012. (In Russ.)
5. ASTM D6980-12. Standard Test Method for Determination of Moisture in Plastics by Loss in Weight [Internet]. *ASTM (American Society for Testing and Materials) International*. Available from: <https://www.astm.org/DATABASE.CART/HISTORICAL/D6980-12.htm>. Accessed: 2021 Aug 3.
6. Antonova NP, Morgunov IM, Prokhvatilova SS, et al. An alternative method of loss on drying determination in herbal medicinal products. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2017;7(3):182–185. (In Russ.)

References

1. Korsun VF, Korsun EV. *Fitoterapiya. Traditsii Rossiyskogo travnichestva*. Moscow: Eksmo, 2010. (In Russ.)
2. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. *Federal'naya elektronnyaya meditsinskaya biblioteka*. Available from: <https://femb.ru/record/pharmacopoeia14>. (In Russ.)

■ Информация об авторах

Дмитрий Александрович Жданов — очный аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: d.a.zhdanov@samsmu.ru

Валерий Борисович Браславский — доктор фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.b.braslavskii@samsmu.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

■ Information about the authors

Dmitrii A. Zhdanov — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and the Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: d.a.zhdanov@samsmu.ru

Valerii B. Braslavskii — Associate Professor, Department of Pharmacognosy with Botany and the Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.b.braslavskii@samsmu.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛИСТЬЕВ АЛОЭ ДРЕВОВИДНОГО (*ALOE ARBORESCENS* MILL.)

Т.К. Рязанова¹, В.А. Куркин¹, А.А. Шмыгарева², С.Н. Глущенко¹, А.И. Агапов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Оренбургский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Оренбург, Россия

Как цитировать: Рязанова Т.К., Куркин В.А., Шмыгарева А.А., Глущенко С.Н., Агапов А.И. Актуальные вопросы стандартизации листьев алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 78–86. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.78-86>

Поступила: 15.07.2021

Одобрена: 19.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ **Обоснование.** Листья алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) содержат в своем составе целый комплекс биологически активных соединений (производные антрахинона, антрона, пирона, биополимеры и др.), их широко применяют в медицинской практике в качестве сырья для получения противовоспалительных и ранозаживляющих средств. Наличие в составе листьев антраценпроизводных обуславливает слабительную активность сырья и препаратов, что подчеркивает особую значимость препаратов алоэ древовидного для внутреннего применения при воспалительных заболеваниях, сопровождающихся запорами и снижением секреторной активности. Другим биологически активным соединением, с которым может быть связана противовоспалительная активность листьев алоэ, является производное пирона — алоэнин. В то же время, несмотря на широкое применение в медицине и изученность химического состава, остаются актуальными проблемы в области стандартизации сырья и препаратов алоэ древовидного. Описанные в литературе методики определения количественного содержания антраценпроизводных многостадийны, предусматривают предварительный кислотный гидролиз в сочетании с окислением, жидкость-жидкостную экстракцию образовавшихся агликонов и комплексообразование с ацетатом магния. В утвержденной нормативной документации на сырье и препараты алоэ не предусмотрено количественное определение алоэнина.

Цель — разработка методов определения количественного содержания биологически активных соединений в сырье и препаратах свежих листьев алоэ древовидного с использованием спектрофотометрического метода и метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Материалы и методы. Объектами исследования были свежие листья *Aloe arborescens* Mill., полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного. Образцы сырья собирали летом и осенью 2020 г. в Зимнем саду кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета. Индивидуальные вещества выделяли методом колоночной хроматографии. В исследовании использовали приборы Bruker DRX 500 (126,76 МГц) для определения спектров ЯМР ¹³C, Bruker AM 300 (300 МГц) — для определения спектров ЯМР ¹H. Масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30, регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena). ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милихром-6» (НПАО «Научприбор»).

Результаты. В результате проведенных исследований из листьев алоэ древовидного методом колоночной хроматографии выделены алоэнин и смесь алоинов А и В (барбалоин). Разработана методика определения количественного содержания алоэнина методом микроколоночной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (306 нм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 25 : 75, скорость элюирования — 100 мкл/мин. Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного (дифференциальная спектрофотометрия с щелочно-аммиачным раствором при 412 нм). Подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент — 40 % этилового спирта, экстракция в течение 60 мин при соотношении сырье/экстрагент 1 : 50. Валидационный анализ показал, что разработанные методики характеризуются удовлетворительными метрологическими показателями.

Заключение. Полученные результаты могут быть использованы при обновлении фармакопейной статьи «Алоэ древовидного листья свежие».

■ **Ключевые слова:** алоэ древовидное; *Aloe arborescens* Mill.; листья; алоэнин; антраценпроизводные; барбалоин; спектрофотометрия; хроматографический анализ.

THE CURRENT ISSUES OF STANDARDIZATION OF *ALOE ARBORESCENS* MILL. LEAVES

T.K. Ryazanova¹, V.A. Kurkin¹, A.A. Shmygareva², S.N. Glushchenko¹, A.I. Agapov¹

¹ Samara State Medical University, Samara, Russia

² Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

To cite this article: Ryazanova TK, Kurkin VA, Shmygareva AA, Glushchenko SN, Agapov AI. The current issues of standardization of *Aloe arborescens* Mill. leaves. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):78–86. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.78-86>

Received: 15.07.2021

Revised: 19.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** *Aloe arborescens* Mill. leaves contain a whole complex of biologically active compounds (derivatives of anthraquinone, anthrone, pyrone, biopolymers, etc.) and are widely used in medical practice as raw materials for the production of anti-inflammatory, wound healing agents. The presence of anthracene derivatives in the leaves determines the laxative activity of raw plant materials and preparations. It emphasizes the importance of *Aloe arborescens* preparations for internal use in inflammatory diseases accompanied by constipation and decrease in secretory activity. Another biologically active compound with which the anti-inflammatory activity of aloe leaves may be associated with a pyrone derivative aloenin. At the same time, despite the widespread use in medicine and a well-studied chemical composition, the problems in the field of standardization of raw materials and preparations of *Aloe arborescens* are still urgent. The methods for determining the quantitative content of anthracene derivatives described in the literature are multistage, they provide for preliminary acid hydrolysis in combination with oxidation, liquid-liquid extraction of the formed aglycones and complexation with magnesium acetate. The approved regulatory documents for aloe raw materials and preparations does not provide for the assay of aloenin

AIM: The aim is to develop the methods for determining the quantitative content of biologically active compounds in the raw materials and preparations of fresh leaves of *Aloe arborescens* by using the spectrophotometric method and the high-performance liquid chromatography method.

MATERIALS AND METHODS: The objects of research were fresh leaves of *Aloe arborescens* Mill., and juice obtained *ex tempore* from fresh leaves of aloe. Samples of raw materials were collected in the summer and autumn of 2020 in the Winter Garden of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy at Samara State Medical University. Individual substances were isolated by column chromatography. In the study, the Bruker DRX 500 instrument (126.76 MHz) was used to determine ¹³C NMR spectra, and the Bruker AM 300 instrument (300 MHz) was used to determine ¹H NMR spectra. Mass spectra were recorded on mass spectrometer Kratos MS-30, UV spectra were recorded by means of the spectrophotometer Specord 40 (Analytik Jena). High-performance liquid chromatography analysis was carried out with the use of the chromatograph Milichrom-6 (Nauchpribor, Russia).

RESULTS: As a result of the study, aloenin and a mixture of aloins A and B (barbaloin) were isolated from the leaves of *Aloe arborescens* by with the use of column chromatography. The method for the determination of the quantitative content of aloenin by microcolumn reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detection (306 nm) was developed, the mobile phase was acetonitrile: 1% acetic acid solution in water in the ratio of 25:75, the elution rate is 100 μL / min. The method for the quantitative determination of the total amount of anthracene derivatives in *Aloe arborescens* fresh leaves (differential spectrophotometry with an alkaline-ammonia solution at 412 nm) was developed. The optimal conditions for the extraction were selected. They are extractant of 40% ethyl alcohol, extraction within 60 minutes at the ratio of “raw material – extractant” is 1:50. Validation analysis has shown that the developed methods are characterized by satisfactory metrological indicators.

CONCLUSIONS: The obtained results can be used to update the pharmacopoeial monograph “*Aloe arborescens* leaves fresh”.

▪ **Keywords:** *Aloe arborescens* Mill.; leaves; aloenin; anthracene derivatives; barbaloin; spectrophotometry; chromatographic analysis.

Введение

Свежие листья алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill. семейства *Asphodelaceae*) как фармакопейное сырье используют для получения лекарственных препаратов («Алоэ сок», «Алоэ экстракт жидкий, раствор для инъекций» и др.), обладающих противовоспалительной, ранозаживляющей активностью [1, 3–6, 8, 16, 20, 21]. В состав листьев

алоэ входят фенольные соединения (антроны, пироны, хромоны и др.), биополимеры (полисахариды, гликопротеины), липиды, каротиноиды, аминокислоты, органические кислоты и др. [4, 7–9, 13].

Ведущей группой биологически активных соединений листьев алоэ древовидного являются антраценпроизводные, среди которых доминирует барбалоин, или алоин (смесь диастереоизомеров, обозначаемых как алои-

ны А и В) (рис. 1) [12, 13, 15]. Содержание алоинов в разных видах алоэ может составлять от 0,1 до 10 % и более в пересчете на абсолютно сухое сырье [18, 19]. В организме человека алоины метаболизируются в более активное соединение — алоэ-эмодин-9-антрон, который, как было установлено в исследованиях биологической активности, обуславливает слабительный эффект препаратов алоэ [4]. Помимо слабительного действия для барбалоина продемонстрировано противогистаминное, противовоспалительное, противовирусное, антимикробное, противоопухолевое действие [18].

Другим важным биологически активным соединением сырья и препаратов алоэ древовидного является производное пирона — алоэнин (рис. 1). Присутствие алоэнина подтверждено во всех образцах коммерческой продукции, лекарственного сырья и препаратов [4]. Результаты экспериментальных исследований показывают, что это вещество обладает выраженными антигистаминными, противовоспалительными свойствами, оказывает ингибирующее влияние на секрецию желудочного сока [4, 9].

Стандартизацию видов алоэ в Британской, Японской, Европейской фармакопеех и Фармакопее США проводят по содержанию барбалоина (алоина А) спектрофотометрическим методом [2, 8, 11, 14, 17]. В Российской Федерации в фармакопейных статьях «Алоэ древовидного листья свежие» и «Алоэ древовидного листья» количественное определение также проводится спектрофотометрическим методом с пересчетом содержания суммы антраценпроизводных на алоэ-эмодин [2, 8]. Все описанные в литературе методики многостадийны, предусматривают предварительный кислотный гидролиз в сочетании с окислением, жидкость-жидкостную экстракцию образовавшихся агликонов и комплексообразование с ацетатом магния [2, 8, 14].

Для количественного определения алоэнина в сырье и препаратах алоэ древовидного предлагаются различные методы [спектрофотометрия, высокоэффективная тонкослойная хроматография с последующим денситометрическим определением, высокоэффективная жидкостная хроматография с детекцией в УФ/видимой области, масс-спектрометрической детекцией, микроколоночная высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография с масс-спектрометрической детекцией и др.] [4, 8, 10, 17]. Д.Н. Олейников и соавт. [10] разработали методику количественного определения алоэнина с использованием микро-

колоночной ВЭЖХ в градиентном режиме, которая позволяет значительно сократить время анализа с 40–50 мин до 18 мин. Известно, что при градиентном режиме корректировка условий наиболее критична, может привести к некорректной идентификации пиков, их наложению или сдвигам, при которых интересные вещества могут выйти после указанного времени регистрации [2].

Эти данные свидетельствуют о целесообразности и актуальности проведения исследования по совершенствованию подходов к стандартизации сырья и препаратов алоэ древовидного.

Цель исследования — разработка методов определения количественного содержания биологически активных соединений в сырье и препаратах свежих листьев алоэ древовидного с использованием спектрофотометрического метода и метода ВЭЖХ.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования были свежие листья *Aloe arborescens* Mill. и полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного. Образцы сырья собирали летом и осенью 2020 г. в Зимнем саду кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии Самарского государственного медицинского университета. Для препаративного выделения индивидуальных соединений использовали полученный *ex tempore* сок из свежих листьев алоэ древовидного.

Выделение индивидуальных веществ из листьев алоэ древовидного проводили с использованием колоночной хроматографии на полиамиде в условиях градиентного элюирования смесями растворителей вода – этанол в различных соотношениях с последующей рехроматографией на силикагеле L 40/100 смесями растворителей хлороформ – этанол в разных соотношениях с постепенным увеличением концентрации этанола. Контроль за разделением веществ осуществляли с использованием хроматографии в тонком слое сорбента (тонкослойная хроматография, ТСХ) на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ в системах хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3).

Спектры ЯМР ^1H получали на приборе Bruker AM 300 (300 МГц), спектры ЯМР ^{13}C — на приборе Bruker DRX 500 (126,76 МГц), масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30. Регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра Specord 40 (Analytik Jena). Содержание суммы антраценпроизводных в сырье и препаратах алоэ дре-

вовидного проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм в пересчете на барбалоин и абсолютно сухое сырье.

ВЭЖХ-анализ осуществляли с использованием хроматографа «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях обращения фазовой хроматографии в изократическом режиме: стальная колонка КАХ-6-80-4 (№ 2; 2 × 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 25 : 75, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2000 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 306 нм (соответствует максимуму поглощения алоэнина).

Результаты и обсуждение

По результатам проводимых нами хроматографических исследований из свежих листьев алоэ древовидного с использованием многократной колоночной хроматографии на силикагеле, полиамиде и различных элюентных смесях были выделены доминирующие вещества, идентифицированные с использованием УФ-, ^1H ЯМР-, ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии, барбалоин, известный как смесь изомеров алоина А (1а) и алоина В (1б) и алоэнин (2) (рис. 1).

Барбалоин (1). Кристаллы желтого цвета, $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_9$, т. пл. 147–149 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 270, 299, 360 нм.

Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 4,57 (2H, д, $J = 7,5$ Гц, CH_2OH -группа), 4,63 (1H, д, $J = 7$ Гц, H-10), 3,0–4,7 (6H глюкопиранозы), 4,78 (1H, д, $J = 7,2$ Гц, H-1' глюкопиранозы), 7,22 (1H, д, $J = 2,0$ Гц, H-2), 7,32 (1H, т, $J = 7,5$ Гц, H-6), 7,69 (1H, д, $J = 2,0$ Гц, H-4), 7,80 (1H, дд, $J = 1,5$ и 8,0 Гц, H-7), 8,43, 7,87 (1H, дд, $J = 1,5$ и 8,0 Гц, H-5), 12,46 (1H, с, OH-группа при C-1), 12,58 (1H, с, OH-группа при C-8).

Спектр ЯМР ^{13}C (126,76 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 52,08 (C-10), 61,23 (C-6' глюкозы), 62,01

(CH_2OH -группа при C-3), 70,03 (C-4' глюкозы), 73,21 (C-2' глюкозы), 78,57 (C-3' глюкозы), 80,36 (C-5' глюкозы), 82,76 (C-1' глюкозы), 114,36 (C-2), 116,88 (C-7), 118,35 (C-4), 119,76 (C-5), 137,98 (C-6), 151,05 (C-3), 161,52 (C-1), 161,69 (C-8), 193,35 (C-9).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): 441,1908 [$M + \text{Na}$] $^+$.

Алоэнин (2). Светло-желтые игольчатые кристаллы, $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$, т. пл. 144–146 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 229 пл., 306.

Спектр ЯМР ^1H (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 2,12 (3H, с, ароматическая CH_3 при C-2'), 3,1–5,0 (6H глюкопиранозы), 3,83 (3H, с, OCH_3 при C-4), 4,82 (1H, д, $J = 7$ Гц, H-1'' глюкопиранозы), 5,58 (1H, $J = 2$ Гц, H-3), 6,24 (1H, $J = 2$ Гц, H-5), 6,35 (1H, $J = 2$ Гц, H-5), 6,48 (1H, $J = 2$ Гц, H-5'), 10,87 (1H, с, OH-группа при C-4').

Спектр ЯМР ^{13}C (126,76 МГц, ДМСО- d_6 , δ , м. д.): 19,80 (C-2', CH_3), 56,25 (C-4, CH_3O), 60,62 (C-6'' глюкозы), 69,49 (C-4'' глюкозы), 73,23 (C-2'' глюкозы), 76,67 (C-3'' глюкозы), 77,08 (C-5'' глюкозы), 87,87 (C-5), 101,23 (C-3), 100,78 (C-1'' глюкозы), 104,28 (C-5'), 110,77 (C-3'), 113,37 (C-1'), 138,96 (C-1'), 156,59 (C-6), 157,91 (C-4'), 159,49 (C-4), 164,09 (C-6'), 171,01 (C-2).

Масс-спектр (HR-ESI-MS, 180 °С, m/z): 411,1282 [$M + \text{H}$] $^+$, 433,1105 [$M + \text{Na}$] $^+$, 449,0845 [$M + \text{K}$] $^+$.

При использовании метода ТСХ алоины на хроматограмме при просматривании в УФ-свете (366 нм) проявляются в виде пятна с ярко-желтой флуоресценцией с $R_f \approx 0,52$, алоэнин в УФ-свете при 366 нм обнаруживается в виде пятна с ярко-голубой флуоресценцией с $R_f \approx 0,45$.

С целью подтверждения качественного состава листьев алоэ древовидного нами использовался метод ВЭЖХ.

С целью проведения ВЭЖХ-анализа был осуществлен подбор системы растворителей (смесь ацетонитрил – 1 % водный раствор уксусной кислоты в различных соотношениях).

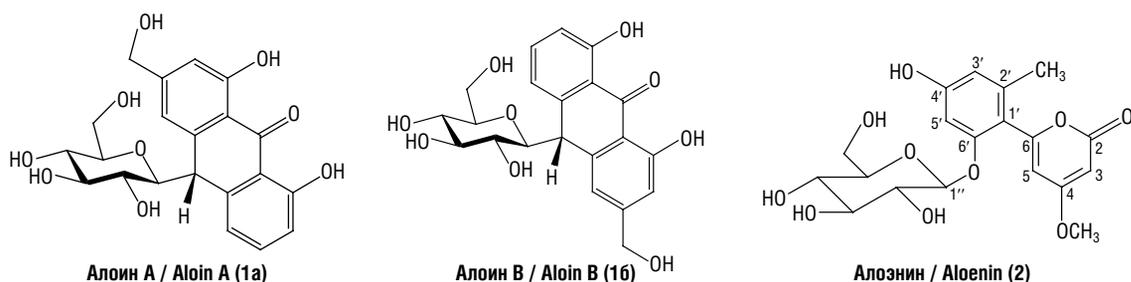


Рис. 1. Фенольные компоненты листьев алоэ древовидного

Fig. 1. Phenolic compounds of Aloe arborescens leaves

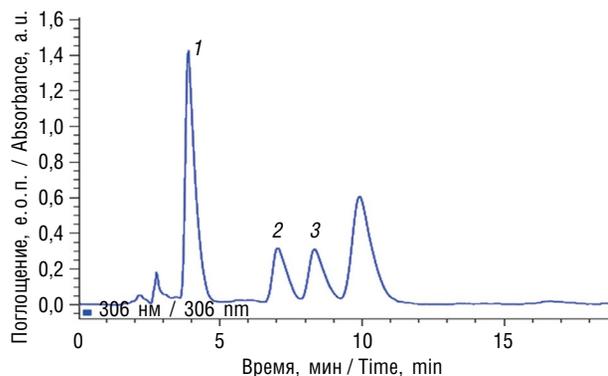


Рис. 2. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма сока листьев алоэ древовидного: 1 — алоэнин; 2, 3 — алоины А и В

Fig. 2. HPLC chromatogram of juice from *Aloe arborescens* leaves: 1 — aloenin; 2, 3 — aloins A and B

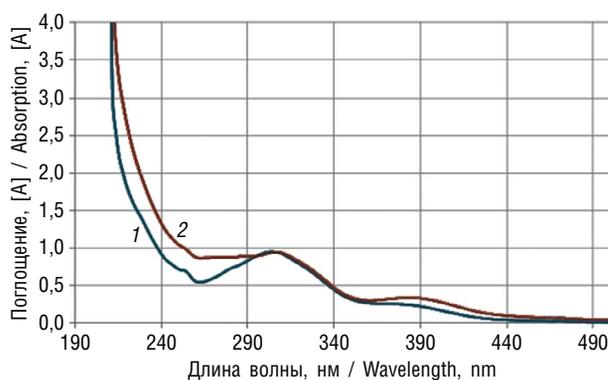


Рис. 4. Электронные спектры водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного: 1 — водно-спиртовое извлечение из свежих листьев алоэ древовидного; 2 — водно-спиртовое извлечение в щелочно-аммиачной среде

Fig. 4. Electronic spectra of aqueous-alcoholic extract from *Aloe arborescens* fresh leaves: 1 — water-alcohol extract from *Aloe arborescens* fresh leaves; 2 — water-alcohol extract in the alkaline-ammonia solution

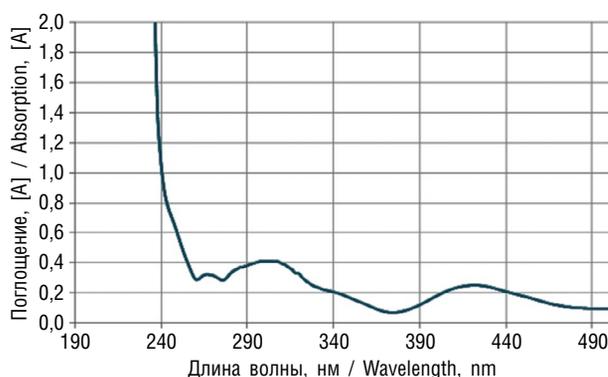


Рис. 5. Электронный спектр водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного (дифференциальный вариант)

Fig. 5. Electronic spectra of aqueous-alcoholic extract from *Aloe arborescens* fresh leaves (differential version)

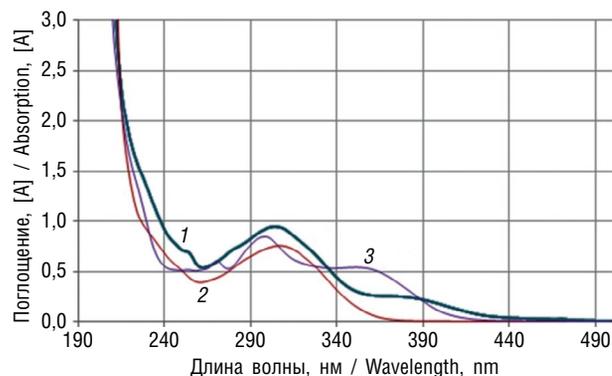


Рис. 3. Электронные спектры водно-спиртового извлечения из свежих листьев алоэ древовидного и выделенных из листьев алоэ соединений: 1 — водно-спиртовое извлечение из свежих листьев алоэ древовидного; 2 — 0,003 % раствор барбалоина; 3 — 0,003 % раствор алоэнина

Fig. 3. Electronic spectra of aqueous-alcoholic extract from *Aloe arborescens* fresh leaves and compounds isolated from aloe leaves: 1 — water-alcohol extract from *Aloe arborescens* fresh leaves; 2 — barbalooin solution, 0.003%; 3 — aloenin solution, 0.003%

Результаты подбора системы растворителей показали, что оптимальной системой, в которой наблюдается хорошее разделение веществ как индивидуальных, так и в извлечении, является смесь ацетонитрила и воды в соотношении 25 : 75.

Сравнение значений времени удерживания пиков веществ (пики 1–3) на ВЭЖХ-хроматограмме сока из свежих листьев алоэ древовидного (рис. 2) и времени удерживания пиков индивидуальных веществ позволило идентифицировать три соединения.

С использованием ВЭЖХ разработана методика количественного определения содержания алоэнина в сырье. Зависимость высоты хроматографического пика от концентрации алоэнина описывали линейной регрессией в диапазоне концентраций от 115 до 1400 мкг/мл ($r^2 = 0,9995$), предел количественного определения составил 110 мкг/мл. Точность методики составила 96,54–103,28 %. Ошибка единичного определения содержания алоэнина в листьях алоэ древовидного с доверительной вероятностью 95 % составила +4,00 %. Сравнительное изучение экстракционной способности спиртов разных концентраций (20, 40, 60, 70, 80, 95 %) показало, что наиболее высокой экстракционной способностью обладают водно-спиртовые смеси с концентрацией этанола 40–70 %.

При изучении электронных спектров сока водно-спиртовых извлечений листьев алоэ древовидного обнаружен вклад в кривую

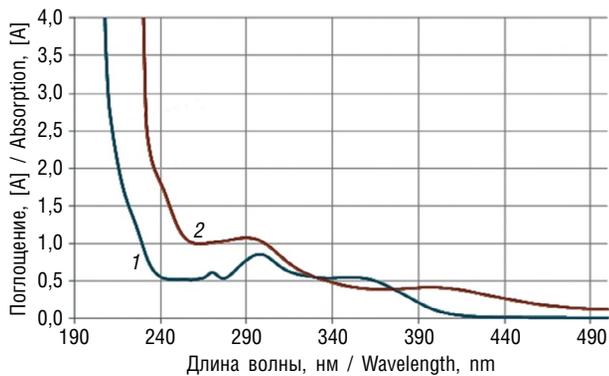


Рис. 6. Электронные спектры 0,003 % раствора барбалоина: 1 — 0,003 % раствор барбалоина; 2 — 0,003 % раствор барбалоина в щелочно-аммиачной среде

Fig. 6. Electronic spectra of 0.003% barbaloine solution: 1 — 0.003% barbaloine solution; 2 — 0.003% barbaloine solution in the alkaline-ammonia solution

поглощения алоэзина в области 300–310 нм и барбалоина в области 290–310 и 350–390 нм (рис. 3). Вклад антраценпроизводных в спектр лекарственного растительного сырья подтверждается батохромным сдвигом длинноволновой полосы в щелочно-аммиачной среде, а также данными дифференциальных спектров с максимумом поглощения в области 412–416 нм (рис. 4–7). При этом важно отметить, что в случае алоэзина не наблюдается батохромный сдвиг длинноволновой полосы в щелочно-аммиачной среде, это свидетельствует о возможности определения суммы антраценпроизводных в присутствии данного вещества, несмотря на его относительно высокое содержание.

С использованием метода дифференциальной спектрофотометрии со щелочно-аммиачным раствором при длине волны 412 нм нами разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного. Для этого сравнивали экстракционную способность спиртов различных концентраций, соотношения сырья/экстрагент и времени экстрагирования. В ходе разработки методики определено, что важными параметрами являются: 40 % этиловый спирт, соотношение сырья/экстрагент — 1 : 50, время экстракции — 60 мин.

Валидационную оценку разработанной методики проводили по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определяли по соответствию максимумов поглощения в спектрах поглощения извлечения, сока и препаратов из листьев алоэ древовидного и выделенного из листьев барбалоина в щелочно-аммиачной среде. Линейность

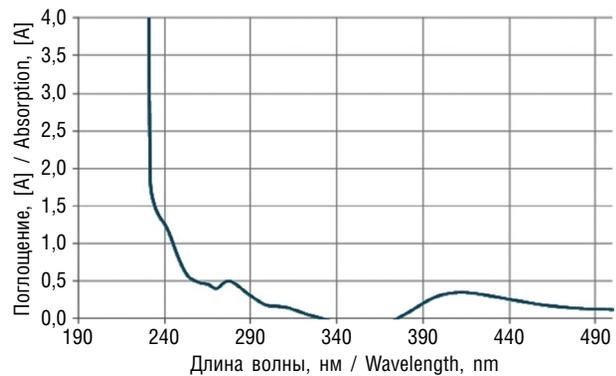


Рис. 7. Электронный спектр 0,003 % раствора барбалоина (дифференциальный вариант)

Fig. 7. Electronic spectra of 0.003% barbaloine solution (differential version)

методики определяли для серии растворов барбалоина (с концентрациями в диапазоне от 0,01572 до 0,03816 мг/мл). Коэффициент корреляции составил 0,99995. Ошибка единичного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного с доверительной вероятностью 95 % составила $\pm 3,36$ %.

Правильность методики определяли методом добавок раствора выделенного вещества с известной концентрацией (25, 50 и 75 %) к испытуемому раствору. При этом средний процент восстановления составил 98 %.

В связи с тем что и в случае антраценпроизводных, и производных пирона (алоэнин) 40 % этанол обладал удовлетворительной экстракционной способностью, в дальнейшем при разработке обновленной редакции фармакопейной статьи рекомендуется получение общего извлечения из свежих листьев алоэ древовидного с использованием в качестве экстрагента 40 % этанола для определения количественного содержания алоэзина (метод ВЭЖХ) и суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин (дифференциальная спектрофотометрия со щелочно-аммиачным раствором).

Заключение

В результате проведенных исследований из листьев алоэ древовидного методом колоночной хроматографии выделены алоэнин и смесь алоинов А и В. С использованием ВЭЖХ проанализированы полученный *extempore* сок и водно-спиртовые извлечения из листьев алоэ древовидного и идентифицировано присутствие выделенных соединений на ВЭЖХ-хроматограмме, в связи с чем этот

метод в подобранных нами условиях можно рекомендовать для подтверждения подлинности лекарственного растительного сырья «Алоэ древовидного листья свежие».

Разработана методика определения количественного содержания алоэина методом микроколоночной обращенно-фазовой ВЭЖХ с УФ-детектированием (306 нм) с применением колонки КАХ-6-80-4 (№ 2; 2×80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 25 : 75, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2000 мкл. Валидационный анализ показал, что методика характеризуется удовлетворительными метрологическими показателями.

Разработана методика количественного определения суммы антраценпроизводных в свежих листьях алоэ древовидного, подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент — 40 % этиловый спирт, экстракция в течение 60 мин при соотношении сырье/экстрагент 1 : 50.

Полученные результаты позволяют рекомендовать 40 % этанол в качестве экстрагента для получения общего извлечения, используемого в дальнейшем для определения количественного содержания алоэина (метод ВЭЖХ) и суммы антраценпроизводных в пересчете на барбалоин (дифференциальная спектрофотометрия с щелочно-аммиачным раствором).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Глушенко С.Н., Шмыгарева А.А., Саньков А.Н. Разработка суппозиторий на основе сока алоэ древовидного // Аспирантский вестник Поволжья. 2020. № 1–2. С. 126–130. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.126-130
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018. Т. 4. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopoeia14>. Дата обращения: 20.02.2021.
3. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. Дата обращения: 01.02.2021.
4. Зилфикаров И.Н., Оленников Д.Н., Ибрагимов Т.А. и др. Современные аспекты фармакогностического и биохимического изучения сукулентного сырья алоэ древовидного и каллизии душистой. Щелково, 2013.
5. Инструкции по медицинскому применению лекарственных препаратов «Алоэ экстракт жидкий» разных производителей [Электронный ресурс] //

Государственный реестр лекарственных средств. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru>. Дата обращения: 01.02.2021.

6. Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата «Алоэ сок» [Электронный ресурс] // Государственный реестр лекарственных средств. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/>. Дата обращения: 01.02.2021.
7. Кудрицкая С.Е., Фишман Г.М., Загородская Л.М., Чиковани Д.М. Каротиноиды *Aloe arborescens* // Химия природных соединений. 1985. № 4. С. 573.
8. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019.
9. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Ибрагимова Т.А. Исследование химического состава алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill.) // Химия растительного сырья. 2010. № 3. С. 77–82.
10. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Пензина Т.А. Применение микроколоночной ВЭЖХ для анализа алоэина в сырье и препаратах алоэ древовидного // Химико-фармацевтический журнал. 2013. Т. 47, № 9. С. 42–45.
11. Сергунова Е.В., Сорокина А.А. Изучение показателей качества листьев алоэ древовидного различными способами консервации // Фармация. 2019. Т. 68, № 7. С. 21–25. DOI: 10.29296/25419218-2019-07-04
12. Beppu H., Kawai K., Shimpo K. et al. Studies on the components of *Aloe arborescens* from Japan – monthly variation and differences due to part and position of the leaf // Biochemical Systematics and Ecology. 2004. Vol. 32, No. 9. 783–795. DOI: 10.1016/j.bse.2004.01.001
13. European medicines agency. Assessment report on *Aloe barbadensis* Mill. and on Aloe (various species, mainly *Aloe ferox* Mill. and its hybrids), folii succus siccatus. 22 November 2016. EMA/HMPC/759585/2015. [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-aloe-barbadensis-mill-aloe-various-species-mainly-aloe-ferox-mill-its_en.pdf. Дата обращения: 01.02.2021.
14. European Pharmacopoeia, 9th ed., EDQM, European Pharmacopoeia, Council of Europe, B.P. 907, F - 67029, Strasbourg, France, 2017.
15. Groom Q.J., Reynolds T. Barbaloin in aloe species // Planta. Med. 1987. Vol. 53, No. 4. P. 345–348. DOI: 10.1055/s-2006-962735
16. Hamman J.H. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel // Molecules. 2008. Vol. 13, No. 8. P. 1599–1616. DOI: 10.3390/molecules13081599
17. Olennikov D.N., Rokhin A.V., Zilfikarov I.N. Method for determining content of phenolic compounds in *Aloe arborescens* // Chemistry of Natural Compounds. 2008. Vol. 44, No. 6. P. 715–718. DOI: 10.1007/s10600-009-9192-6
18. Patel D.K., Patel K., Tahilyani V. Barbaloin: a concise report of its pharmacological and analytical aspects //

- Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2012. Vol. 2, No. 10. P. 835–838. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60239-1
19. Salehi B., Albayrak S., Antolak H. et al. Aloe genus plants: from farm to food applications and phytopharmacotherapy // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. Vol. 19, No. 9. P. 2843. DOI: 10.3390/ijms19092843
 20. Singab A.N.B., El-Hefnawy H.M., Esmat A. et al. A systemic review on *Aloe arborescens* pharmacological profile: Biological activities and pilot clinical trials // *Phytother. Res.* 2015. Vol. 2, No. 12. P. 1858–1867. DOI: 10.1002/ptr.5483
 21. Yamamoto M., Masui T., Sugiyama K. et al. Anti-inflammatory active constituents of *Aloe arborescens* Miller // *Agric. Biol. Chem.* 1991. Vol. 55. P. 1627–1629. DOI: 10.1080/00021369.1991.10870794

References

1. Glushchenko SN, Shmygareva AA, Sankov AN. Razrabotka suppozitoriev na osnove soka aloe drevovidnogo. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2020;(1–2):126–130. (In Russ.). DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.126-130
2. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV ed. Moscow; 2018. Vol. 4. [Internet]. Available from: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>. Accessed: 20.02.2021. (In Russ.)
3. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv [Internet]. Available from: <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>. Accessed: 01.02.2021. (In Russ.)
4. Zilfikarov IN, Olennikov DN, Ibragimov TA, et al. Sovremennye aspekty farmakognosticheskogo i biokhimičeskogo izučeniya sukkulentnogo syr'ya aloe drevovidnogo i kallizii dushistoy. Shchelkovo; 2013. (In Russ.)
5. Instruksii po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennykh preparatov "Aloeh ehkstrakt zhidkil" raznykh proizvoditelei [Internet]. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv. Available from: <https://grls.rosminzdrav.ru>. Accessed: 01.02.2021. (In Russ.)
6. Instruksiya po meditsinskomu primeneniyu lekarstvennogo preparata "Aloeh sok" [Internet]. Gosudarstvennyj reestr lekarstvennykh sredstv. Available from: <https://grls.rosminzdrav.ru/>. Accessed: 01.02.2021. (In Russ.)
7. Kudritskaya SE, Fishman GM, Zagorodskaya LM, Chikovani DM. Carotenoids of *Aloe arborescens*. *Chemistry of natural compounds*. 1985;(4):573. (In Russ.)
8. Kurkin VA. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmatsevticheskikh vuzov. 4th ed. Samara; 2019. (In Russ.)
9. Olennikov DN, Zilfikarov IN, Ibragimova TA. Investigation of the chemical composition of *Aloe arborescens* Mill. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2010;(3):77–82. (In Russ.)
10. Olennikov DN, Zilfikarov IN, Penzina TA. Use of microcolumn HPLC for analysis of aloenin in aloe arborescens raw material and related drugs. *Pharm Chem J*. 2013;47:494–497. DOI: 10.1007/s11094-013-0988-0
11. Sergunova EV, Sorokina AA. Study of the quality indicators of arborescent aloe (*aloe arborescens*) leaves subjected to different preservation procedures. *Farmatsiya*. 2019;68(7):21–25. (In Russ.). DOI: 10.29296/25419218-2019-07-04
12. Beppu H, Kawai K, Shimpo K, et al. Studies on the components of *Aloe arborescens* from Japan – monthly variation and differences due to part and position of the leaf. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2004;32(9):783–795. DOI: 10.1016/j.bse.2004.01.001
13. European medicines agency. Assessment report on *Aloe barbadensis* Mill. and on Aloe (various species, mainly *Aloe ferox* Mill. and its hybrids), folii succus siccatus. 22 November 2016. EMA/HMPC/759585/2015. [Internet]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-aloe-barbadensis-mill-aloe-various-species-mainly-aloe-ferox-mill-its_en.pdf. Accessed: 01.02.2021.
14. European Pharmacopoeia, 9th ed., EDQM, European Pharmacopoeia, Council of Europe, B.P. 907, F - 67029, Strasbourg, France; 2017.
15. Groom QJ, Reynolds T. Barbaloin in aloe species. *Planta Med.* 1987;53(4):345–348. DOI: 10.1055/s-2006-962735
16. Hamman JH. Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel // *Molecules*. 2008;13(8):1599–1616. DOI: 10.3390/molecules13081599
17. Olennikov DN, Rokhin AV, Zilfikarov IN. Method for determining content of phenolic compounds in *Aloe arborescens*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2008;44(6):715–718. DOI: 10.1007/s10600-009-9192-6
18. Patel DK, Patel K, Tahilyani V. Barbaloin: a concise report of its pharmacological and analytical aspects. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012;2(10):835–838. DOI: 10.1016/S2221-1691(12)60239-1
19. Salehi B, Albayrak S, Antolak H, et al. Aloe genus plants: from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Int J Mol Sci*. 2018;19(9):2843. DOI: 10.3390/ijms19092843
20. Singab ANB, El-Hefnawy HM, Esmat A, et al. A systemic review on *Aloe arborescens* pharmacological profile: Biological activities and pilot clinical trials. *Phytother Res*. 2015;2(12):1858–1867. DOI: 10.1002/ptr.5483
21. Yamamoto M, Masui T, Sugiyama K, et al. Anti-inflammatory active constituents of *Aloe arborescens* Miller. *Agric Biol Chem*. 1991;55:1627–1629. DOI: 10.1080/00021369.1991.10870794

■ Информация об авторах

Татьяна Константиновна Рязанова — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

■ Information about the authors

Tatyana K. Ryazanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Management and Economics in Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

■ Информация об авторах

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Анна Анатольевна Шмыгарева — доктор фармацевтических наук, профессор кафедры управления и экономики фармации, фармацевтической технологии и фармакогнозии. ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России, Оренбург, Россия. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Светлана Николаевна Глущенко — соискатель кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.svetik2315@mail.ru

Альберт Иванович Агапов — доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru

■ Information about the authors

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Anna A. Shmygareva — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Department of Management and Economics in Pharmacy, Pharmaceutical Technology and Pharmacognosy. Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia. E-mail: a.shmygareva@mail.ru

Svetlana N. Glushchenko — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.svetik2315@mail.ru

Albert I. Agapov — Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Chair of Medical Chemistry. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru

ОПТИМИЗАЦИЯ СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА «БОЯРЫШНИКА ПЛОДОВ НАСТОЙКА»

Н.А. Волкова, В.А. Куркин, О.Е. Правдивцева, И.Х. Шайхутдинов, С.В. Первушкин, О.В. Бер

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Волкова Н.А., Куркин В.А., Правдивцева О.Е., Шайхутдинов И.Х., Первушкин С.В., Бер О.В. Оптимизация способа получения препарата «Боярышника плодов настойка» // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 87–91. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.87-91>

Поступила: 17.06.2021

Одобрена: 12.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ Плоды растений различных видов рода Боярышник содержат флавоноиды и широко используются в отечественной и зарубежной медицине для производства кардиотонических препаратов. Боярышник мягковатый (полумягкий) (*Crataegus submollis* Sarg.) выращивается в нашей стране в качестве пищевого и декоративного растения, однако в медицине в настоящее время не применяется. Из плодов боярышника мягковатого возможно получение сока, обладающего диуретическим действием и антидепрессантной активностью. Высушенный жом плодов может быть использован для получения экстракционных препаратов. Цель работы — сравнительный анализ образцов настоек, полученных на основе плодов боярышника мягковатого и жома его плодов. На основе высушенных плодов боярышника мягковатого и жома его плодов были получены настойки на основе 70 % этилового спирта. Качество полученных настоек исследовали, определяя сумму флавоноидов. Настойки, полученные на основе высушенного жома плодов боярышника мягковатого, не уступают по содержанию флавоноидов промышленным образцам препаратов. Плоды боярышника мягковатого и жом его плодов могут служить лекарственным растительным сырьем для получения настоек.

▪ **Ключевые слова:** боярышник мягковатый; *Crataegus submollis* Sarg.; боярышник кроваво-красный; *Crataegus sanguinea* Pall.; плоды; настойка; флавоноиды; спектрофотометрия.

METHOD OPTIMIZATION FOR OBTAINING OF “HAWTHORN FRUIT TINCTURE”

N.A. Volkova, V.A. Kurkin, O.E. Pravdivtseva, I.Kh. Shaikhutdinov, S.V. Pervushkin, O.V. Ber

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Volkova NA, Kurkin VA, Pravdivtseva OE, Shaikhutdinov IKh, Pervushkin SV, Ber OV. Method optimization for obtaining of “Hawthorn fruit tincture”. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhya*. 2021;(5-6):87–91. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.87-91>

Received: 17.06.2021

Revised: 12.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ The fruits of various species of the genus *Crataegus* L. contain flavonoids and are widely used in domestic and foreign medicine for the production of cardiotonic drugs. *Crataegus submollis* Sarg. is grown in our country as the edible and ornamental plant, but it is not currently used in medicine. Fruit juice of *Crataegus submollis* Sarg. exerts diuretic effect and an antidepressant activity. Dried fruit pulp can be used to produce extraction preparations. The aim of the work is to compare and analyze the samples of tinctures obtained from the fruits of the *Crataegus submollis* Sarg. and the pulp of its fruits. Tinctures based on 70% ethyl alcohol were obtained on the basis of dried fruits of *Crataegus submollis* Sarg. and the pulp of its fruits. The quality of the obtained tinctures was studied by determining of the total amount of flavonoids. Tinctures made of dried pulp of *Crataegus submollis* Sarg. fruits are as good as industrial samples of preparations in terms of flavonoid content. The fruits of the *Crataegus submollis* Sarg. and the pulp of its fruits can serve as medicinal plant raw materials for obtaining tinctures.

▪ **Keywords:** *Crataegus submollis* Sarg.; *Crataegus sanguinea* Pall.; fruits; flavonoids; spectrophotometry; tincture.

Введение

Плоды растений различных видов рода Боярышник широко используются в отечественной и зарубежной медицине для производства кардиотонических препаратов, потребность в которых растет из года в год [1–3]. Боярышник мягковатый (полумягкий) (*Crataegus submollis* Sarg., сем. розоцветные — *Rosaceae*) выращивается в нашей стране в качестве пищевого и декоративного растения, при этом к числу фармакопейных видов не относится [4]. Плоды боярышника мягковатого содержат богатый состав биологически активных соединений, среди которых, по нашим данным, доминируют восстановленные формы флавоноидов — производные катехина [5, 6]. Поэтому именно боярышник мягковатый, на наш взгляд, является одним из самых перспективных видов для заготовки лекарственного растительного сырья.

Плоды боярышника мягковатого имеют более крупные размеры по сравнению с плодами дикорастущих видов боярышника [6]. Сбор плодов боярышника мягковатого возможно начинать уже в период их технической спелости в начале сентября, когда они содержат мало влаги и легче высушиваются. Высушенные плоды боярышника мягковатого не уступают по содержанию действующих веществ плодам фармакопейных видов боярышника и могут, на наш взгляд, служить сырьем для получения лекарственных средств, в том числе препарата «Боярышника плодов настойка» [1, 5–7]. Однако на стадии биологической спелости плоды полностью созревают и становятся сочными. Это обстоятельство делает процесс высушивания весьма затруднительным. Выходом из ситуации может служить получение сока из свежих плодов и последующее высушивание жома. Следует также отметить, что по мере созревания плодов содержание суммы флавоноидов в них снижается [6].

Как показали наши исследования, сок, полученный на основе свежих плодов боярышника мягковатого, обладает диуретической активностью и антидепрессантным действием и может с успехом быть использован в качестве нового лекарственного средства [6]. Однако и в высушенном жоме плодов содержится большое количество флавоноидов [6]. На наш взгляд, высушенный жом может быть использован для получения экстракционных препаратов, аналогично высушенным плодам.

Настойку плодов боярышника получают с помощью 70 % этилового спирта, в соотношении сырье/экстрагент 1 : 10 [2]. На наш

взгляд, выбранное соотношение возможно изменить на 1 : 5, как обычно поступают в случае неядовитых видов лекарственного растительного сырья. Качество фармакопейного препарата оценивают по содержанию флавоноидов в пересчете на гиперозид методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 410 нм [2]. Содержание суммы флавоноидов в препарате «Боярышника плодов настойка» должно быть не менее 0,003 % [2]. Этот метод количественного анализа направлен на определение окисленных форм флавоноидов, которые в высушенных плодах боярышника присутствуют в незначительном количестве. При этом ранее нами был разработан способ количественного анализа суммы флавоноидов в пересчете на катехин в свежих и высушенных плодах боярышника мягковатого, а также в высушенных плодах боярышника кроваво-красного. Данный способ основан на прямой спектрофотометрии при длине волны 282 нм [6].

Таким образом, **целью работы** стал сравнительный анализ образцов настоек, полученных на основе плодов боярышника мягковатого и жома его плодов.

Материалы и методы

Плоды боярышника были заготовлены нами в течение сентября 2020 г. в Ботаническом саду Самарского университета. Все плоды были высушены на воздухе без прямых солнечных лучей. Сначала были использованы собранные в начале сентября плоды боярышника мягковатого и боярышника кроваво-красного (*Crataegus sanguinea* Pall.), не подвергавшиеся прессованию. Затем в середине сентября нами были собраны плоды боярышника мягковатого, которые в свежесобранном виде подверглись прессованию с получением сока, после чего жом плодов был высушен аналогичным образом. На их основе были получены образцы настоек с помощью 70 % этилового спирта в соотношении сырье/экстрагент 1 : 5 и 1 : 10. Во всех случаях использовался метод модифицированной мацерации.

Оценку качества полученного лекарственного средства проводят путем определения содержания в нем суммы флавоноидов в пересчете на катехин и гиперозид. В качестве образца сравнения был использован промышленный образец настойки плодов боярышника и полученный нами образец настойки плодов боярышника кроваво-красного.

Во всех полученных образцах препаратов определялось содержание суммы восстановленных форм флавоноидов в пересчете

на катехин и содержание суммы окисленных флавоноидов в пересчете на гиперозид.

Количественное определение суммы восстановленных форм флавоноидов в полученных образцах проводили методом прямой спектрофотометрии при длине волны 282 нм в пересчете на катехин (см. рисунок). Для этого 1 мл настойки помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят этиловым спиртом 70 % концентрации до метки и перемешивают (раствор А). 5 мл полученного раствора А помещают в мерную колбу на 25 мл и также доводят до метки этиловым спиртом 70 % концентрации (раствор Б). После перемешивания у раствора Б измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 282 нм. Раствором сравнения служит 70 % этиловый спирт. Содержание суммы флавоноидов (X, %) в препарате в пересчете на катехин и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 25}{144 \cdot 1 \cdot 5},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора (раствора Б); 144 — удельный показатель поглощения стандартного образца катехина при 282 нм.

Количественное определение суммы окисленных форм флавоноидов в полученных образцах проводили методом дифференциальной спектрофотометрии при длине волны 412 нм в пересчете на гиперозид. Для этого 1 мл настойки помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят спиртом этиловым 70 % концентрации до метки и перемешивают (раствор А). 5 мл полученного раствора А помещают в мерную колбу на 25 мл и также доводят до метки спиртом этиловым 70 % концентрации (раствор Б1). 5 мл полученного раствора А помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 1 мл 3 % спиртового раствора алюминия хлорида и также доводят до метки этиловым спиртом 70 % концентрации (раствор Б2). После перемешивания у раствора Б2 измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 412 нм. Раствором сравнения служит раствор Б1. Содержание суммы флавоноидов (X, %) в препарате в пересчете на гиперозид и абсолютно сухое сырье вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 25 \cdot 25}{330 \cdot 1 \cdot 5},$$

где D — оптическая плотность испытуемого раствора (раствора Б2); 330 — удельный показатель поглощения стандартного образца гиперозида при 412 нм.

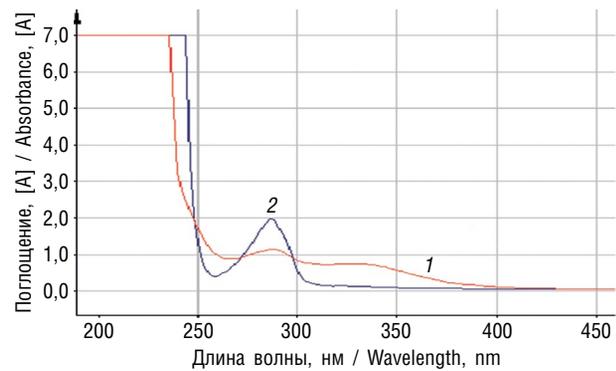


Рисунок. Электронные спектры спиртовых растворов катехина и извлечения из плодов боярышника мягковатого: 1 — раствор водно-спиртового извлечения из плодов боярышника мягковатого 1 : 625; 2 — раствор катехина в этиловом спирте 1 : 8000

Figure. Electronic spectra of alcoholic solution of catechin and extract from *Crataegus submollis* Sarg. fruits: 1 — solution of water-alcohol extraction from *Crataegus submollis* Sarg. fruits 1:625; 2 — catechin solution in ethyl alcohol 1:8000

Результаты и обсуждение

В полученных образцах настоек было определено содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин и гиперозид. Все полученные результаты исследования отражены в табл. 1 и 2.

Как видно из результатов, представленных в табл. 1, содержание суммы флавоноидов в настойке на основе высушенных плодов и жом плодов боярышника мягковатого выше, чем у препарата, полученного промышленным способом.

Определено, что в препарате, полученном на основе жом плодов, содержание флавоноидов выше, чем в препарате на основе плодов, не подвергшихся прессованию (табл. 2). Причем содержание суммы флавоноидов выше по восстановленным формам флавоноидов. Следует также отметить, что содержание суммы флавоноидов в настойке плодов боярышника мягковатого, полученных в соотношении 1 : 5, выше, чем в случае соотношения 1 : 10. При этом содержание суммы флавоноидов в настойке плодов боярышника мягковатого выше, чем в аналогичном препарате, полученном на основе плодов боярышника кроваво-красного. Анализируя данные табл. 1 и 2, можно также заметить, что настойки, полученные на основе плодов боярышника мягковатого, собранных в начале сентября и не подвергавшихся прессованию, содержат больше флавоноидов, чем полученные из сырья, собранного в середине сентября. Получая лекарственный препарат с высокой концентрацией

Таблица 1 / Table 1

Содержание суммы флавоноидов в образцах настоек плодов боярышника, полученных в соотношении сырье/экстракт 1 : 10

The total amount of flavonoids in the samples of hawthorn fruits tincture obtained in the ratio "raw material/extractant" 1:10

| Препарат | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин в настойке, % | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в настойке, % |
|--|---|---|
| Настойка на основе плодов боярышника мягковатого, собранных в начале сентября | 0,18 ± 0,01 | 0,004 ± 0,0002 |
| Настойка на основе жома плодов боярышника мягковатого, собранных в середине сентября | 0,15 ± 0,01 | 0,004 ± 0,0002 |
| Промышленный образец ОАО «Флора Кавказа» | 0,10 ± 0,005 | 0,003 ± 0,0002 |

Таблица 2 / Table 2

Содержание суммы флавоноидов в образцах настоек плодов боярышника, полученных в соотношении сырье/экстракт 1 : 5

The total amount flavonoids in the samples of hawthorn fruits tincture obtained in the ratio "raw material/extractant" 1:5

| Препарат | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на катехин в настойке, % | Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гиперозид в настойке, % |
|--|---|---|
| Настойка на основе плодов боярышника мягковатого, собранных в начале сентября | 0,46 ± 0,02 | 0,016 ± 0,0008 |
| Настойка на основе плодов боярышника мягковатого, собранных в середине сентября | 0,38 ± 0,02 | 0,005 ± 0,0003 |
| Настойка на основе жома плодов боярышника мягковатого, собранных в середине сентября | 0,40 ± 0,02 | 0,005 ± 0,0003 |
| Настойка плодов боярышника кроваво-красного, собранных в начале сентября | 0,36 ± 0,02 | 0,015 ± 0,0008 |

биологически активных соединений, возможно существенно снизить объем этилового спирта в применяемой дозе. Данное обстоятельство немаловажно в случае терапии хронических сердечно-сосудистых заболеваний.

Заключение

Таким образом, можно сделать вывод, что разработанный способ получения настойки на основе высушенных плодов боярышника мягковатого и высушенного жома плодов боярышника мягковатого позволяет получать препарат, не уступающий по содержанию суммы флавоноидов препарату, выпускаемому промышленностью в настоящее время. Разработанный метод количественного анализа с расчетом суммы флавоноидов в пересчете на катехин является более специфичным и селективным, так как он позволяет определять целевые вещества плодов боярышника — восстановленные формы флавоноидов. Для плодов боярышника мягковатого, как нового источника лекарственных средств, возможна комплексная переработка сырья с получением экстракционных препаратов на основе высу-

шенного жома свежих плодов. Следовательно, боярышник мягковатый является перспективным источником получения лекарственного растительного сырья.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Басырова И.Р., Либис Р.А. Распространенность основных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний и их комбинаций у жителей города Оренбурга // Аспирантский вестник Поволжья. 2017. № 1–2. С. 48–53.
- Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. М., 2018. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>.
- Деревья и кустарники СССР. М.; Л.: Академия наук СССР, 1954. Т. 3.
- Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 4-е изд., перераб. и доп. Самара, 2019.
- Куркин В.А., Зайцева Е.Н., Правдивцева О.Е. и др. Изучение фармакологической активности препаратов плодов боярышника мягковатого // Наука

- и инновации в медицине. 2019. Т. 4, № 3. С. 69–72. DOI: 10.35693/2500-1388-2019-4-3-69-72
6. Куркин В.А., Правдивцева О.Е., Шайхутдинов И.Х. и др. Виды рода боярышник (*Crataegus* L.): стандартизация и создание лекарственных препаратов: монография. Самара, 2020.
 7. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012.

References

1. Basyrova IR, Libis RA. The prevalence of major cardiovascular risk factors and their combinations in residents of Orenburg city. *Aspirantskij vestnik Povolzh'ja*. 2017;(1–2):48–53. (In Russ.)
2. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoi Federacii. 14th ed. Moscow; 2018. [Internet]. Available from: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>. (In Russ.)
3. Derev'ya i kustarniki SSSR. Moscow; Leningrad: Akademiya nauk SSSR, 1954. Vol. 3. (In Russ.)
4. Kurkin VA. Farmakognoziya: uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov. 4-e izd., pererab. i dop. Samara; 2019. (In Russ.)
5. Kurkin VA, Zajceva EN, Pravdivtseva OE, et al. Fruits of *crataegus submollis*: study of pharmacological activity of the preparations. *Nauka i in-nivathii v meditsine*. 2019;4(3):69–72. (In Russ.). DOI: 10.35693/2500-1388-2019-4-3-69-72
6. Kurkin VA, Pravdivtseva OE, Shaikhutdinov IKh, et al. Vidy roda boyaryshnik (*Crataegus* L.): standartizatsiya i sozдание lekarstvennykh preparatov: monografiya. Samara; 2020. (In Russ.)
7. Kurkina AV. Flavonoidy farmakopeinykh rastenii: monografiya. Samara; 2012. (In Russ.)

■ Информация об авторах

Надежда Александровна Волкова — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: nadezhda_alexandrovna_1997@mail.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Ольга Евгеньевна Правдивцева — доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: pravdivtheva@mail.ru

Ильнур Хясяинович Шайхутдинов — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: ilshekh@gmail.com

Сергей Васильевич Первушкин — доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

Ольга Владимировна Бер — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

■ Information about the authors

Nadezhda A. Volkova — Postgraduate Student, Department of Pharmacognosy with Botany and the Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: nadezhda_alexandrovna_1997@mail.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Olga E. Pravdivtseva — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: pravdivtheva@mail.ru

Ilnur Kh. Shaikhutdinov — Postgraduate Student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: ilshekh@gmail.com

Sergey V. Pervushkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Technology with the Course in Biotechnology. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

Olga V. Ber — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmaceutical Technology with the Course in Biotechnology. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РОДА ТОПОЛЬ (*POPULUS L.*), ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В САМАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Е.А. Урбанчик, В.А. Куркин, А.И. Агапов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Урбанчик Е.А., Куркин В.А., Агапов А.И. Фармакогностическое изучение некоторых видов рода Тополь (*Populus L.*), произрастающих в Самарской области // *Аспирантский вестник Поволжья*. 2021. № 5–6. С. 92–97. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.92-97>

Поступила: 21.05.2021

Одобрена: 30.07.2021

Принята: 06.09.2021

▪ На территории Российской Федерации произрастает около 30 видов тополя (*Populus L.*), фармакопейные из них только пять. В качестве лекарственного растительного сырья используются почки фармакопейных видов тополя. Химический состав почек достаточно разнообразен, ведущая группа — флавоноиды (около 30 %). Диагностически значимыми для представителей рода Тополь являются флаваноны — пиностробин (5-гидрокси-7-метоксифлаванон) и пиноцембрин (5,7-дигидроксифлаванон). Наряду с фармакопейными видами перспективными для изучения и дальнейшего использования считаются гибриды тополей, обладающие рядом преимуществ. Один из таких перспективных видов — тополь красонервный. Состав почек тополя красонервного в настоящий момент не изучен. В результате проведенных исследований нами было обнаружено присутствие фенольных соединений, предположительно флавоноидов, в составе почек тополя красонервного наряду с фармакопейными видами благодаря методам тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии.

▪ **Ключевые слова:** тополь; *Populus L.*; тополь черный; *Populus nigra L.*; тополь красонервный; *Populus rubrinervis* Hort. Alb.; почки; спектрофотометрический анализ; хроматографический анализ; флавоноиды.

THE PHARMACOGNOSTIC STUDY OF SOME SPECIES OF THE GENUS POPLAR (*POPULUS L.*) GROWING IN THE SAMARA REGION

E.A. Urbanchik, V.A. Kurkin, A.I. Agapov

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Urbanchik EA, Kurkin VA, Agapov AI. The pharmacognostic study of some species of the genus poplar (*Populus L.*) growing in the Samara Region. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):92–97. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.92-97>

Received: 21.05.2021

Revised: 30.07.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ About 30 species of poplar (*Populus L.*) grow on the territory of the Russian Federation, however only five of them are pharmacopoeial. The buds of pharmacopoeial poplar species are used as medicinal plant raw materials. The chemical composition of the buds is quite diverse, the leading group is flavonoids (about 30%). The flavanones like pinostrobin (5-hydroxy-7-methoxyflavanone) and pinocembrin (5,7-dihydroxyflavanone) are diagnostically significant for the representatives of the genus *Populus*. Along with pharmacopoeia species, poplar hybrids are promising for study and further use, they have a number of advantages. One of such promising species is *Populus rubrinervis* Hort. Alb. The composition of the buds of *Populus rubrinervis* hasn't been studied yet. As a result of the conducted studies, we found phenolic compounds, presumably flavonoids, in the composition of both the buds of *Populus rubrinervis* and pharmacopoeia species with the use of thin-layer chromatography and spectrophotometry.

▪ **Keywords:** poplar; *Populus L.*; black poplar; *Populus nigra L.*; red-nerved poplar; *Populus rubrinervis* Hort. Alb.; buds; spectrophotometric analysis; chromatographic analysis; flavonoids.

Введение

В настоящее время на территории Российской Федерации произрастает около 30 видов тополя (*Populus* L.), из них фармакопейные только пять: тополь черный (*Populus nigra* L.), тополь канадский (*Populus deltoides* Marsh.), тополь душистый *Populus suaveolens* Fisch.), тополь лавролистный (*Populus laurifolia* Ledeb.) и тополь бальзамический (*Populus balsamifera* L.) — ФС.2.5.0042.15 «Тополь почки» [1, 2, 4]. В качестве лекарственного растительного сырья используют почки фармакопейных видов тополя. Химический состав почек достаточно разнообразен: сырье содержит около 30 % флавоноидов — пиностробин, пиноцембрин, пинобаксин, альпинон, хризин, тектохризин, апигенин, изальпинин, кемпферол, кверцетин — всего выделено из почек тополя свыше 20 флавоноидов, а также фенилпропаноиды, прежде всего коричные кислоты (*n*-кумаровая, кофейная, коричная, феруловая и др.). Ко второй группе биологически активных веществ относится эфирное масло около 0,5–2,0 %, представленное терпеноидами. К сопутствующим веществам относятся простые фенолы — производные салицилового спирта, а также фенолкарбоновые кислоты и смола [1, 4, 7, 11, 13].

Наиболее характерными флавоноидами почек тополя, имеющими диагностическое значение для видов рода Тополь, являются флаваноны — пиностробин (5-гидрокси-7-метоксифлаванон) и пиноцембрин (5,7-дигидроксифлаванон) (рис. 1, 2) [1–4, 7, 13]. Именно данные вещества определяют характер кривой поглощения ультрафиолетовых (УФ) спектров экстрактов почек видов рода *Populus*, о чем свидетельствует разработанная ранее фармакопейная методика количественного определения в почках тополя суммы фенольных соединений — флавоноидов и фенилпропаноидов в пересчете на пиностробин методом прямой спектрофотометрии (ФС.2.5.0042.15 раздел «Количественное определение») [2].

В настоящее время препараты на основе почек тополя применяют как противогрибко-

вые, противовоспалительные, антисептические, антиоксидантные и ранозаживляющие средства при инфекционных и гнойно-воспалительных поражениях кожи и мягких тканей [1, 4, 5, 7]. За рубежом почки тополя используют как лекарственные средства, обладающие противоревматическим, ранозаживляющим, антиоксидантным, антибактериальным и противовоспалительным действием, а также изучается противораковая активность и использование экстрактов тополя в офтальмологической и стоматологической практике [10–12, 14, 15].

Наряду с фармакопейными видами, перспективными для изучения и дальнейшего использования являются гибриды тополей, обладающие рядом преимуществ [8, 9].

Один из таких интересных межсекционных гибридов настоящих тополей — тополь красонервный (*Populus rubrinervis* Hort. Alb.). Данный вид зимостоек, газоустойчив, хорошо размножается одревесневшими стеблевыми черенками, дает корневые отпрыски, декоративен [клон отобран А.В. Альбенским из группы гибридных сеянцев тополя генероза Генри (волосистоплодный × угловатый), присланных из Англии] [8, 9]. Большое преимущество тополя красонервного — это его крупные листья и почки: листья достигают в длину до 30–35 см и в ширину до 20 см; почки крупные, длиной до 34 мм и 10 мм в ширину, что в дальнейшем может быть полезным при заготовке сырья [6, 8, 9]. В литературных источниках данный вид тополя рекомендуется к использованию для озеленения городов благодаря его устойчивости к природным явлениям и быстрому росту. Немалым преимуществом также можно считать тот факт, что у тополя красонервного отсутствуют женские экземпляры, а период вегетации растения сохраняется до ноября [8]. Однако в литературе не встречается информации о химическом составе данного сырья. Таким образом, листья и почки тополя красонервного представляют научный интерес для дальнейшего фармакогностического изучения, в том числе в плане определения действующих веществ наряду с фармакопейными видами.

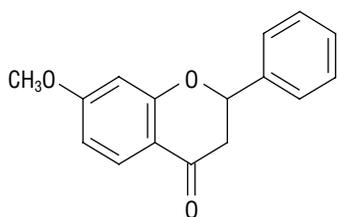


Рис. 1. Структурная формула пиностробина

Fig. 1. Structural formula of pinostrobin

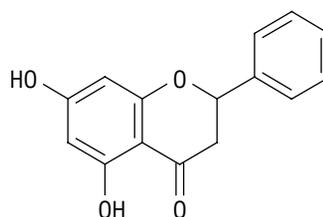


Рис. 2. Структурная формула пиноцембрин

Fig. 2. Structural formula of pinocembrin

Цель настоящего исследования — фармакогностическое изучение некоторых видов рода Тополь, произрастающих на территории Самарской области.

Материалы и методы исследования

Материалом для изучения служили почки тополя черного (п. Алексеевка Самарской области, апрель 2018 г.) и тополя красной (Ботанический сад, г. Самара, апрель 2018 г.); почки были высушены в естественных условиях.

Для количественного определения фенольных соединений в почках тополя черного и красной использовали фармакопейную методику количественного определения фенольных соединений в пересчете на стандартный образец пиностробин (ФС.2.3.0042.15 «Тополя почки») [2].

Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на пиностробин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляли по формуле [2]:

$$X = \frac{D \cdot 40 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot 1 \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

где D — оптическая плотность раствора B испытуемого раствора; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения пиностробина при длине волны 289 нм, равный 700; m — масса сырья, г; W — потеря в массе при высушивании, %.

Для определения содержания действующих веществ в извлечении из почек тополя красной формула была модифицирована и адаптирована под данное сырье:

$$X = \frac{D \cdot 40 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100}{A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m \cdot 5 \cdot 1 \cdot (100 - W)},$$

где D — оптическая плотность раствора B испытуемого раствора; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения пиностробина при длине волны 289 нм, равный 700; m — масса сырья, г; W — потеря в массе при высушивании, %.

Далее полученные извлечения почек тополя черного и тополя красной наносили на хроматографические пластинки. Определение проводили в системе 9 : 1 (хлороформ/этанол) на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ согласно фармакопейной статье ФС.2.3.0042.15 «Тополя почки».

Спектрофотометрическое исследование извлечений из сырья проводили на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena) в кюветках с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн от 190 до 500 нм.

Результаты и обсуждение

Для проведения качественного анализа исследуемых объектов использовали метод тонкослойной хроматографии на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ с детекцией в видимом и УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм. Проявление хроматограмм осуществлялось щелочным раствором диазобензолсульфокислоты. В качестве веществ-свидетелей на пластинки наносили спиртовые растворы стандартных образцов: пиностробина, рутина, кверцетина и лютеолина.

При рассмотрении хроматограммы в УФ-свете при длине волны 366 нм обнаружена зона адсорбции, имеющая яркое голубое свечение в обоих исследуемых образцах извлечений — тополя черного и тополя красной, на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца пиностробина (рис. 3, а). При просмотре хроматограммы в УФ-свете при длине волны 254 нм выявлена зона адсорбции фиолетового цвета в обоих исследуемых образцах извлечений на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца пиностробина (рис. 3, б). После обработки хроматограмм щелочным раствором диазобензолсульфокислоты в извлечениях тополя черного и тополя красной были обнаружены желто-оранжевые пятна на уровне со стандартным раствором пиностробина, что соответствует фармакопейной методике качественного анализа основных групп биологически активных веществ в почках тополя. Полученные данные дают возможность предположить, что в обоих образцах присутствует группа биологически активных веществ, таких как фенольные соединения, предположительно — флавоноиды.

Для подтверждения полученных нами результатов методом тонкослойной хроматографии было проведено исследование извлечений из почек тополя черного и тополя красной методом УФ-спектроскопии. При сравнительном изучении УФ-спектров изучаемых водно-спиртовых извлечений почек видов тополя и раствора стандартного образца пиностробина обнаружено, что основной вклад в кривую поглощения УФ-спектра водно-спиртовых извлечений вносят фенольные соединения. Данные соединения имеют максимум поглощения при длине волны около 290 нм, характерный для флавоноидов флавоноидной природы (рис. 4).

Количественное определение суммы фенольных соединений проводили методом прямой спектрофотометрии с пересчетом суммы фенольных соединений на пиностро-

бин согласно ФС.2.3.0042.15 «Тополь почки». Содержание суммы фенольных соединений в почках тополя черного и тополя краснойнервного составило около 10 % (9,11 и 6,91 % соответственно). По фармакопейной методике содержание должно быть не менее 15 % (более низкое процентное содержание в почках тополя черного может свидетельствовать о том, что исследуемый нами представитель является гибридом), что предполагает более углубленное изучение химического состава почек видов рода Тополь, в том числе тополя краснойнервного, с целью выделения веществ и разработки методики количественного определения флавоноидов.

Заключение

Таким образом, результаты исследований, полученные с использованием тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии, позволяют сделать вывод, что в составе почек тополя краснойнервного наряду с фармакопейными видами (тополь черный и др.) было обнаружено присутствие флавоноидов, в основном флаваноновой природы. Тополь краснойнервный обладает рядом преимуществ по сравнению с другими видами рода Тополь: его почки в несколько раз превышают размеры других видов данного рода, что позволит рационально использовать растение при заготовке сырья; зимостойкость и быстрый рост. Это дает возможность для дальнейшего фармакогностического изучения почек тополя краснойнервного: химического состава, фармакологической активности и внедрения в медицинскую практику.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Браславский В.Б. Ива, тополь и прополис в медицине и фармации: монография. Самара, 2012.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Т. 3. М., 2018. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/rharmasorea14>. Дата обращения: 30.07.2021.
3. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012.
4. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 5-е изд., перераб. и доп. Самара, 2020. С. 372–377.
5. Куркин В.А., Браславский В.Б., Запесочная Г.Г. Почки тополя — перспективный источник антимикробных и противогрибковых лекарственных средств // Традиционная медицина и питание: теоретические

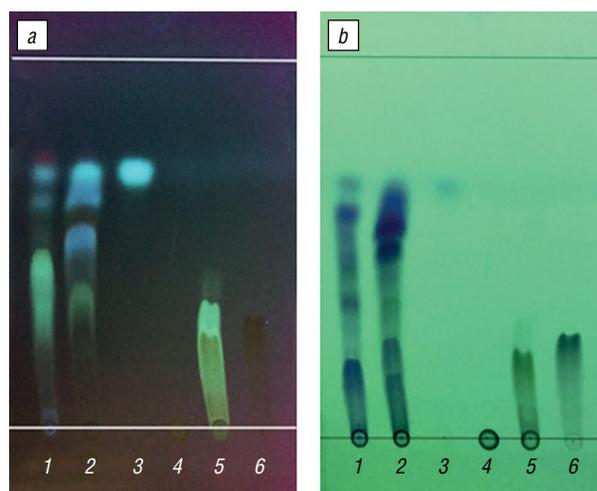


Рис. 3. Хроматограмма анализа спиртовых извлечений из почек некоторых видов тополя в системе растворителей хлороформ/этанол (9 : 1): *a* — детекция в УФ-свете при длине волны 366 нм; *b* — детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм. Образцы извлечений на 96 % этиловом спирте: 1 — почки тополя черного; 2 — почки тополя краснойнервного; 3 — пиностробин; 4 — рутин; 5 — кверцетин; 6 — лютеолин

Fig. 3. Chromatogram of the analysis of the alcohol extraction from *Populus* buds in the system of solvents chloroform/ethanol (9:1): *a* — detection in UV-light at the wavelength of 366 nm; *b* — detection in UV-light at the wavelength of 254 nm. Samples of extractions on 96% ethyl alcohol: 1 — buds of *Populus nigra*; 2 — buds of *Populus rubrinervis*; 3 — pinostrobin; 4 — rutin; 5 — quercetin; 6 — luteolin

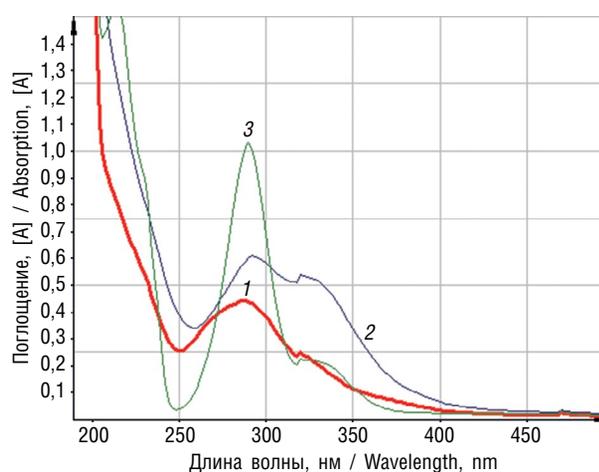


Рис. 4. Электронные спектры спиртовых извлечений из почек некоторых видов тополя: 1 — извлечение из почек тополя краснойнервного; 2 — извлечение из почек тополя черного; 3 — раствор стандартного образца пиностробина

Fig. 4. Electronic spectra of alcohol extractions from *Populus* buds: 1 — extraction from the buds of *Populus rubrinervis*; 2 — extraction from the buds of *Populus nigra*; 3 — solution of a reference standard of pinostrobin

- и практические аспекты: материалы Первого международного научного конгресса. М., 1994. С. 172.
6. Михайлова Т.С., Куприянова Е.А., Куркин В.А. и др. Исследование морфологических признаков почек некоторых видов растений рода *Populus* // Материалы III Межвузовской студенческой научно-практической конференции «Фармацевтическая ботаника: современность и перспективы». Самара, 2018. С. 116–122.
 7. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Paoniaceae* – *Thymelaeaceae*. Л.: Наука, 1986. С. 105–114.
 8. Хлебников В.Ф., Онуфриенко Н.Е., Смурова Н.В. и др. Перспективная форма тополя краснонервного для озеленения населенных пунктов // Материалы научно-практической конференции (с международным участием) «Биоразнообразие и факторы, влияющие на экосистемы бассейна Днестра». Тирасполь, 2018. С. 220–222.
 9. Царев А.П. Сортоведение тополя. Воронеж, 1986.
 10. Adekenov S.M., Zhabayeva A.N., Itzhanova K.I. et al. Development of the composition and technology of a new dental gel with anti-inflammatory and antimicrobial action // *Eurasian Chemico-Technological Journal*. 2020. Vol. 22, No. 2. P. 117–122. DOI: 10.18321/ectj958
 11. Kis B., Avram S., Pavel I.Z. et al. Recent advances regarding the phytochemical and therapeutic uses of *Populus nigra* L. Buds // *Plants (Basel)*. 2020. Vol. 9, No. 11. P. 1464. DOI: 10.3390/plants9111464
 12. Poblócka-Olech L., Inkielewicz-Stepniak I., Krauze-Baranowska M. Anti-inflammatory and antioxidative effects of the buds from different species of *Populus* in human gingival fibroblast cells: Role of bioflavanones // *Phytomedicine*. 2019. Vol. 56. P. 1–9. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.08.015
 13. Poblócka-Olech L., Migas P., Krauze-Baranowska M. TLC determination of some flavanones in the buds of different genus *Populus* species and hybrids // *Acta Pharm.* 2018. Vol. 68, No. 2. P. 199–210. DOI: 10.2478/acph-2018-0018
 14. Singh S., Meena A., Luqman S., Meena A. Acacetin and pinostrobin as a promising inhibitor of cancer-associated protein kinases // *Food Chem. Toxicol.* 202. Vol. 151. P. 112091. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112091
 15. Stanciauskaite M., Marksa M., Ivanauskas L. et al. Ophthalmic *in situ* gels with balsam poplar buds extract: Formulation, rheological characterization, and quality evaluation // *Pharmaceutics*. 2021. Vol. 13, No. 7. P. 953. DOI: 10.3390/pharmaceutics13070953
- from: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>. Accessed: 30.07.2021. (In Russ.)
3. Kurkina AV. Flavonoidy farmakopejnyh rastenij: monografiya. Samara; 2012. (In Russ.)
 4. Kurkin VA. Farmakognozija: uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov. 5th ed. Samara; 2020. P. 372–377. (In Russ.)
 5. Kurkin VA, Braslavskiy VB, Zapesochnaya GG. Pochki topolya – perspektivnyi istochnik antimikrobnnykh i protivogribkovykh lekarstvennykh sredstv. Proceedings of the First Interinternational Scientific Congress “Traditsionnaya meditsina i pitaniye: teoreticheskiye i prakticheskiye aspekty”. Moscow; 1994. P. 172. (In Russ.)
 6. Mihajlova TS, Kupriyanova EA, Kurkin VA, et al. Issledovanie morfologicheskikh priznakov pochek nekotorykh vidov rastenij roda *Populus*. Proceedings of the III Interuniversity Student Scientific and Practical European Conference “Farmaceuticheskaya botanika: sovremenost’ i perspektivy”. Samara; 2018. P. 116–122. (In Russ.)
 7. Rastitel’nye resursy SSSR: Tsvetkovye rasteniya, ikh khimicheskii sostav, ispol’zovanie; Semeistva *Paoniaceae-Thymelaeaceae*. Leningrad: Nauka; 1986. P. 105–114. (In Russ.)
 8. Hlebnikov VF, Onufrienko E, Smurova NV, et al. A promising form of *Populus rubrinervis* for landscaping settlements. Proceedings of the Scientific and Practical Conference (with international native participation) “Bioraznoobrazie i faktory, vliyayushchie na ekosistemy basseina Dnestra”. Tiraspol’; 2018. P. 220–222. (In Russ.)
 9. Carev AP. Sortovedenie topolya. Voronezh; 1986. (In Russ.)
 10. Adekenov SM, Zhabayeva AN, Itzhanova KI, et al. Development of the composition and technology of a new dental gel with anti-inflammatory and antimicrobial action. *Eurasian Chemico-Technological Journal*. 2020;22(2):117–122. DOI: 10.18321/ectj958
 11. Kis B, Avram S, Pavel IZ, et al. Recent advances regarding the phytochemical and therapeutic uses of *Populus nigra* L. Buds. *Plants (Basel)*. 2020; 9(11):1464. DOI: 10.3390/plants9111464
 12. Poblócka-Olech L, Inkielewicz-Stepniak I, Krauze-Baranowska M. Anti-inflammatory and antioxidative effects of the buds from different species of *Populus* in human gingival fibroblast cells: Role of bioflavanones. *Phytomedicine*. 2019;56:1–9. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.08.015
 13. Poblócka-Olech L, Migas P, Krauze-Baranowska M. TLC determination of some flavanones in the buds of different genus *Populus* species and hybrids. *Acta Pharm.* 2018;68(2):199–210. DOI: 10.2478/acph-2018-0018
 14. Singh S, Meena A, Luqman S., Meena A. Acacetin and pinostrobin as a promising inhibitor of cancer-associated protein kinases. *Food Chem Toxicol.* 202;151:112091. DOI: 10.1016/j.fct.2021.112091
 15. Stanciauskaite M, Marksa M, Ivanauskas L, et al. Ophthalmic *in situ* gels with balsam poplar buds extract: Formulation, rheological characterization, and quality evaluation. *Pharmaceutics*. 2021;13(7):953. DOI: 10.3390/pharmaceutics13070953

References

1. Braslavskiy VB. Iva, topol’ i propolis v medicine i farmacii: monografiya. Samara; 2012. (In Russ.)
2. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV ed. Vol. 3. Moscow; 2018 [Internet]. Available

▪ Информация об авторах

Елена Александровна Урбанчик — кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакологии имени заслуженного деятеля науки РФ профессора А.А. Лебедева. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: e.a.kupriyanova@samsmu.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Альберт Иванович Агапов — доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru

▪ Information about the authors

Elena A. Urbanchik — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Assistant, Department of Pharmacology named after Professor A.A. Lebedev. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: e.a.kupriyanova@samsmu.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Albert I. Agapov — Doctor of Biological Sciences, Professor, Professor of the Chair of Medical Chemistry. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.i.agapov@samsmu.ru

СРАВНИТЕЛЬНОЕ МОРФОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОДОВ ЛАБАЗНИКА ВЯЗОЛИСТНОГО [*FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM.] И ПЛОДОВ ЛАБАЗНИКА ШЕСТИЛЕПЕСТНОГО (*FILIPENDULA HEXAPETALA* GILIB.)

К.Н. Сазанова, С.Х. Шарипова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Сазанова К.Н., Шарипова С.Х. Сравнительное морфолого-анатомическое исследование плодов лабазника вязолистного [*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.] и плодов лабазника шестилепестного (*Filipendula hexapetala* Gilib.) // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 98–104. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.98-104>

Поступила: 24.06.2021

Одобрена: 27.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** Лабазник вязолистный [*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., сем. Розоцветные — *Rosaceae*] — представитель флоры Европейской части России, широко распространенный на территории Самарской области. Цветки лабазника вязолистного являются фармакопейным видом сырья, однако плоды этого растения не применяются в научной медицине. Плоды лабазника вязолистного и его близкородственного вида — лабазника шестилепестного — перспективный источник биологически активных соединений фенольной и стероидной природы. Введение новых видов лекарственного растительного сырья в официальную медицинскую практику требует разработки нормативной документации, включающей в себя морфологическую и анатомическую диагностику видов.

Цель настоящей работы — изучение и сравнение морфолого-анатомических особенностей строения плодов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного.

Материалы и методы. Материалом исследования служили сухие плоды лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного, собранные в июне-июле 2019 г. в Самарской области. Исследования проводили методом световой микроскопии в проходящем и отраженном свете на светлом поле.

Результаты. Выявлены особенности морфолого-анатомического строения плодов двух видов лабазника, ранее не описанные в литературе. Так, для плодов лабазника вязолистного выявлены отличительные диагностические признаки: переходный тип строения стели плодоножек и наличие в них неравномерно расположенных лизигенных вместилищ, опущение эпидермиса простыми одноклеточными трихомами; трехслойная структура перикарпия, значительное количество монокристаллов в паренхиме листовки, конусовидная форма проводящего пучка в области шва листовки. Для плодов лабазника шестилепестного характерны: реторто-видные волоски, составляющие густое опущение многолисточка; особенности проводящей системы листовки в виде одного крупного коллатерального пучка конусовидной формы, расположенного со стороны шва.

Заключение. Результаты, полученные в ходе исследования, позволяют в дальнейшем разработать раздел «Микроскопические признаки» в проекте фармакопейной статьи на новое перспективное лекарственное растительное сырье «Лабазника вязолистного плоды» и «Лабазника шестилепестного плоды».

▪ **Ключевые слова:** лабазник вязолистный; *Filipendula ulmaria*; лабазник шестилепестный; *Filipendula hexapetala*; плоды; морфолого-анатомический анализ.

FRUITS OF MEADOWSWEET [*FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM.] AND DROPWORT (*FILIPENDULA HEXAPETALA* GILIB.): COMPARATIVE MORPHOLOGICAL AND ANATOMICAL INVESTIGATION

K.N. Sazanova, S.Kh. Sharipova

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Sazanova KN, Sharipova SKh. Fruits of meadowsweet [*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.] and dropwort (*Filipendula hexapetala* Gilib.): Comparative morphological and anatomical investigation. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):98–104. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.98-104>

Received: 24.06.2021

Revised: 27.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** Meadowsweet [*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.], is the representative of flora of the European parts of Russia. It is widespread in Samara Region. The flowers of the meadowsweet are the pharmacopoeial type of raw materials, but the fruits of this plant are not used in medicine. The fruits of the meadowsweet and its closely related type of the dropwort are the promising source of biologically active compounds of phenolic and sterol nature. Introduction of new types of medical plant raw materials into official medical practice requires the development of regulatory documentation, including morphological and anatomical diagnostics of types.

AIM: The purpose of this work was to study and compare morphological and anatomical features of the structure of meadowsweet fruits and dropwort.

MATERIALS AND METHODS: The material of the study was the dry fruits of the meadowsweet and dropwort, collected in June-July 2019 in Samara Region. The research was carried out by means of light microscopy in transmitted and reflected light in a light field.

RESULTS: Morphological and anatomical characteristics of the fruits of two types of meadowsweet were revealed. They hadn't been described in the literature before. So the fruits of the meadowsweet have the following diagnostic features: the stele of the pedicels is of transitional type, lysigenic receptacles located in them are uneven, pubescence of the epidermis occurs due to simple unicellular trichomes; they also have the three-layer structure of the pericarp, a significant quantity of single crystals in the parenchyma of the parmelia, the cone-shaped form of the conducting bundle in the parmelia seam. The fruits of the dropwort are characterised by retort-shaped hairs that make up the thick pubescence of the multiple fruits, peculiar conducting system of the parmelia in the form of one large collateral bundle of the cone-shaped form, located on the side of the seam.

CONCLUSIONS: The obtained results allow to develop the chapter "Microscopic signs" as a part of the pharmacopoeial monograph devoted to a new perspective medicinal plant raw materials of "Fruits of the meadowsweet" and "Fruits of the dropwort".

▪ **Keywords:** meadowsweet; *Filipendula ulmaria*; dropwort; *Filipendula hexapetala*; fruits; morphological and anatomical analysis.

Обоснование

Лабазников, или таволги, в природе более 10 видов. На территории Самарской области часто встречаются два вида: лабазник вязолистный [*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.] и лабазник шестилепестный (*Filipendula hexapetala* Gilib.) — крупные многолетние растения семейства розоцветные (*Rosaceae*).

Лабазник шестилепестный, или таволга шестилепестная, растет на сухих полянах и светлых лесных опушках, а лабазник вязолистный, или таволга вязолистная, предпочитает сырые леса и луга; оба вида широко распространены во многих районах европейской части России [5].

Известно, что наземные и подземные части лабазников содержат ряд биологически активных соединений и обладают широким спектром фармакологической активности, поэтому лабазник издревле широко использовался в народной медицине: существуют патенты Российской Федерации на использование лабазника в качестве средств различного действия [9, 10].

Анализ научной литературы демонстрирует перспективность создания лекарственных препаратов на основе сырья лабазников, однако препараты в настоящее время отсутствуют.

Именно лекарственные растения играют важную роль при первичной профилактике целого ряда заболеваний и при поддерживающей терапии. В результате современных

химико-фармакогностических исследований номенклатура лекарственных растений и лекарственных препаратов, которые из них получают, постоянно пополняется и изменяется. Расширение ассортимента лекарственных средств растительного происхождения не теряет своей актуальности вследствие специфики воздействия их на организм. Как известно, Стратегия медицинского обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 г. в качестве одного из приоритетов государственной политики обозначила разработку конкурентоспособных импортозамещающих отечественных лекарственных средств растительного происхождения. Но для решения такой задачи требуется надлежащая стандартизация исходного лекарственного растительного сырья.

Введение новых видов растительного сырья в официальную медицинскую практику требует разработки нормативной документации, включающей в себя диагностику вида. В арсенале ученых много разных методов исследования, но один из основных методов диагностики в фармации — морфолого-анатомический анализ [8]. Морфологическое и анатомическое строение органов лабазника исследовалось ранее рядом отечественных ученых [1, 6, 10]. Несмотря на это, в научной литературе недостаточно данных о гистологических особенностях плодов указанных видов растения, а также не выявлены отличающие

анатомические признаки двух близкородственных видов.

Цель исследования — сравнительное морфолого-анатомическое изучение особенностей строения плодов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовали плоды лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного, заготовленные в фазу плодоношения в Самарской области (п. Алексеевка) в июне-июле 2019 г. Видовую специфичность растений подтверждали при помощи определителей соответствующей флоры [5].

Морфолого-анатомический анализ лекарственного растительного сырья проводили визуально по общей фармакопейной методике на плоды Государственной фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания [4]. Приготовление и окраску микропрепаратов осуществляли в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания (ОФС.1.5.3.0003.15) [4, 8]. Исследование микропрепаратов проводили в проходящем и отраженном свете с помощью цифровых микроскопов марки Motic: DM-1802 и DM-39C-N9GO.

Результаты и их обсуждение

Плоды лабазника шестилепестного представлены сухими многolistовками, расположенными на плодоножках щитковидно-метельчатого соцветия (рис. 1, *a*). Односемянная листовка плода лабазника шестилепестного

по форме каплевидная, с опушением и горизонтально оттянутым на верхушке носиком [2, 3, 6, 7].

Плоды лабазника вязолистного морфологически отличаются от плодов лабазника шестилепестного и представляют собой сухие сплюснутые, спирально завернутые вдоль оси многolistовки, расположенные на плодоножках щитковидно-метельчатого соцветия (рис. 1, *b*). Каждая листовка продолговато-выпуклая и сильно уплощена, с оттянутым носиком на верхушке. Листовка не имеет опушения [2, 3, 7].

Анализ анатомического строения поперечных сечений плодоножек позволил выявить различия между двумя исследуемыми видами лабазника: анатомически плодоножка лабазника вязолистного переходного типа строения (рис. 2, *c*), плодоножка лабазника шестилепестного непучкового типа (рис. 2, *a*). Очертания поперечного сечения плодоножки лабазника вязолистного округлые, слегка волнистые. Поверхность плодоножек представлена эпидермой (рис. 2, *d*). Эпидермальные клетки двух видов лабазника округло-овальной формы, с заметно утолщенными стенками. На поверхности эпидермиса плодоножки лабазника вязолистного слабо кутикулирован, то есть содержит отложения воскоподобного органического вещества, кутина, в виде пленки — кутикулы, которая способствует уменьшению испарения воды у растения. Наличие этого органического вещества подтверждается окрашиванием кутикулы в розовый цвет после обработки 0,5 % раствором Судана III (рис. 2, *d*).

У плодов лабазника шестилепестного сразу после эпидермы расположен один слой клеток

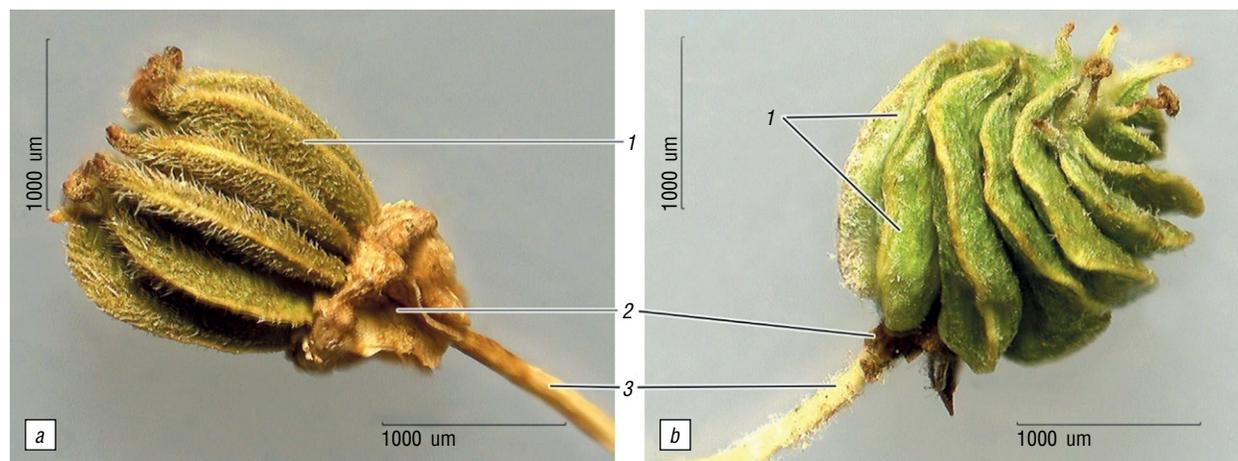


Рис. 1. Плод лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного ($\times 20$): *a* — общий вид сухой многolistовки лабазника шестилепестного; *b* — общий вид сухой многolistовки лабазника вязолистного. 1 — листовка; 2 — остаток околоцветника; 3 — плодоножка

Fig. 1. The fruit of the meadowsweet and dropwort ($\times 20$): *a* — general view of the dry multiple fruit of the dropwort; *b* — general view of the dry multiple fruit of the meadowsweet. 1 — parmelia; 2 — the residual of the envelope; 3 — pedicel

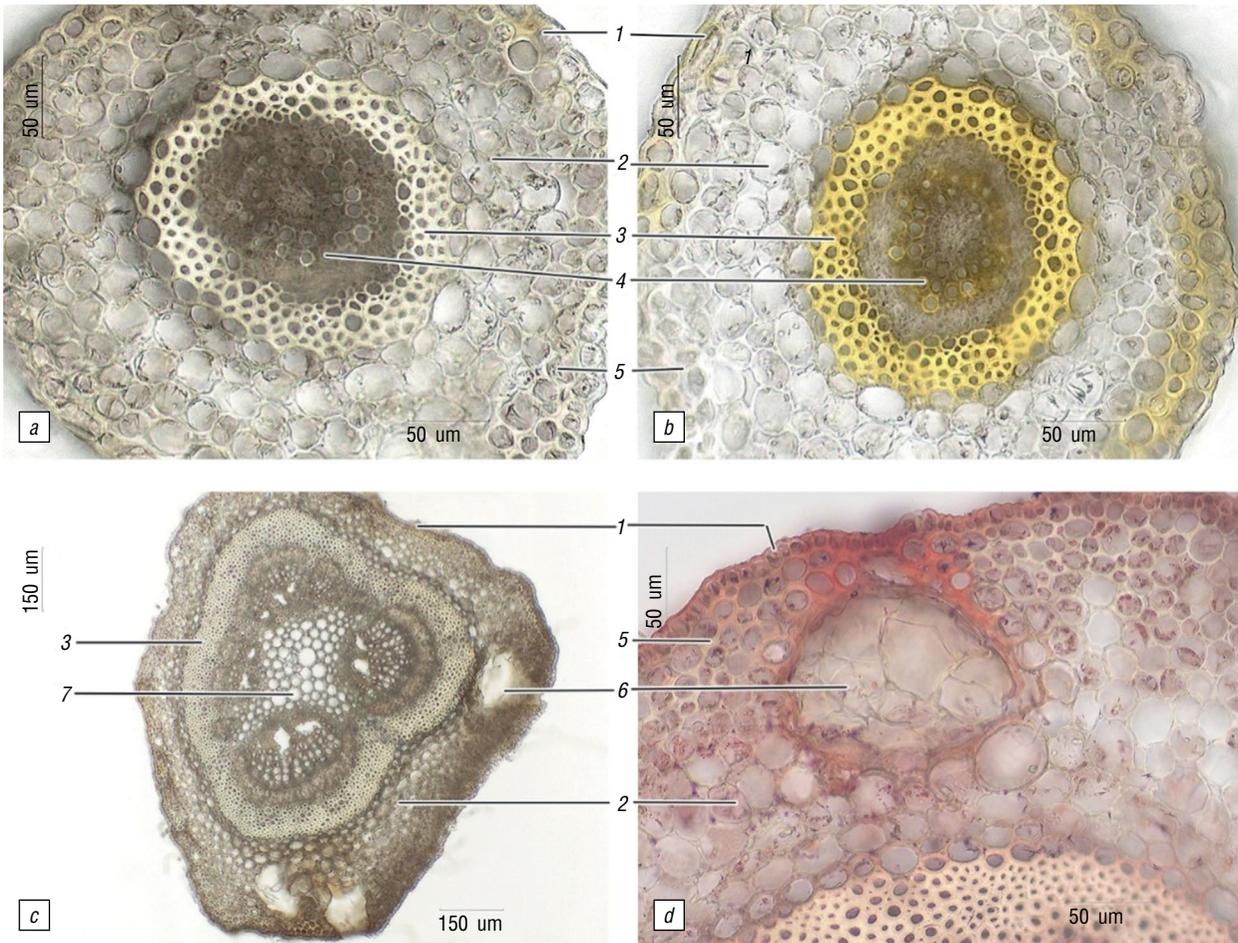


Рис. 2. Гистология поперечных сечений плодоножки лабазника шестилепестного и лабазника вязолистного: *a* — общий вид плодоножки лабазника шестилепестного до окрашивания ($\times 100$); *b* — вид плодоножки лабазника шестилепестного после окраски 10 % раствором сернокислого анилина ($\times 100$); *c* — общий вид плодоножки лабазника вязолистного до окрашивания ($\times 40$); *d* — фрагмент поперечного сечения плодоножки лабазника вязолистного после окраски 0,5 % раствором Судана III ($\times 400$). 1 — эпидерма; 2 — паренхима; 3 — склеренхима; 4 — ксилема; 5 — колленхима; 6 — вместилище; 7 — клетки основной паренхимы

Fig. 2. Histology of the cross-sections of dropwort and meadowsweet pedicels: *a* — general view of the dropwort pedicel before the staining ($\times 100$); *b* — view of the dropwort pedicel after the staining with 10% solution of aniline sulfuric acid ($\times 100$); *c* — general view of the meadowsweet pedicel before the staining ($\times 40$); *d* — part of the cross-section of the meadowsweet pedicel after the staining with 0.5% solution of Sudan III ($\times 400$). 1 — epidermis; 2 — parenchyma; 3 — sclerenchyma; 4 — xylem; 5 — collenchyma; 6 — receptacle; 7 — cells of the main parenchyma

уголковой колленхимы, окрашивающийся в слабо-желтый цвет после обработки 1 % раствором сернокислого анилина (рис. 2, *b*). Под слоем эпидермы плодов лабазника вязолистного расположена 3–4-рядная уголковая колленхима. Ее клеточные стенки целлюлозные, характерно утолщенные, без выраженных поровых каналов (рис. 2, *d*).

Клетки основной ткани первичной коры плодов лабазника вязолистного значительно крупнее колленхимных, округлой формы, с тонкими клеточными стенками. В толще паренхимы первичной коры локализованы неравномерно расположенные крупные лизигенные вместилища, что является диагно-

стическим признаком для данного вида лабазника. После обработки 0,5 % раствором Судана III оболочки клеток по периферии вместилищ окрашиваются в розовый цвет (рис. 2, *d*), что говорит о липофильной природе их секрета.

Центральный цилиндр плодоножки лабазника вязолистного представлен совокупностью разноразмерных открытых коллатеральных пучков, расположенных по кольцу (рис. 2, *c*). Со стороны флоэмной части пучки армированы мощным блоком склеренхимных волокон. Клеточные стенки волокон видоизменены, они значительно утолщены, инкрустированы ароматическим высокомолекулярным

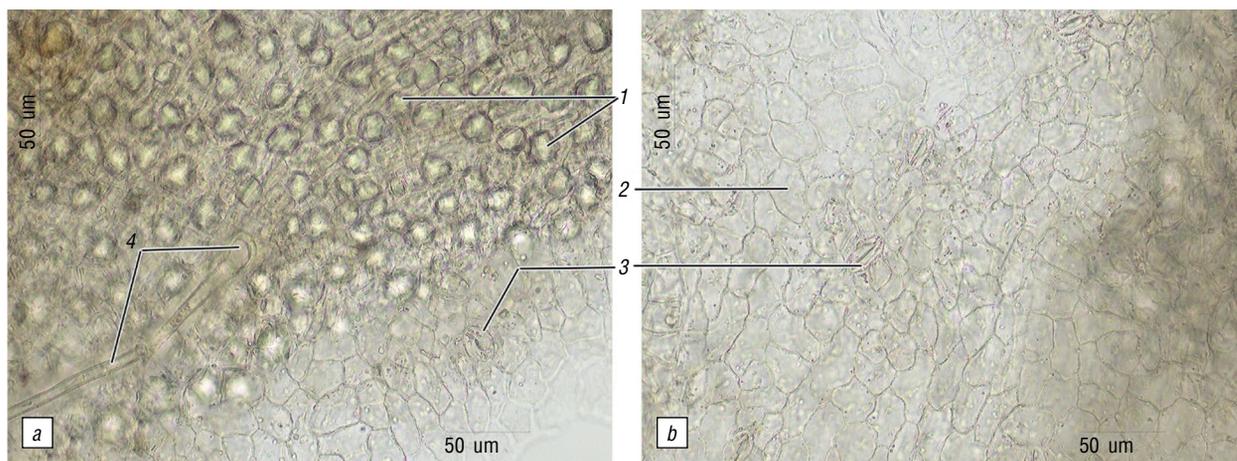


Рис. 3. Особенность эпидермиса плодolistика (листочка) плодов лабазника вязолистного ($\times 400$): *a* — фрагмент эпидермиса с простыми волосками; *b* — фрагмент эпидермиса с устьицами. 1 — друзы оксалата кальция; 2 — клетки эпидермиса; 3 — устьица; 4 — простые одноклеточные волоски

Fig. 3. The feature of the parmelia epidermis of the fruits meadowsweet ($\times 400$): *a* — part of the epidermis with simple hairs; *b* — part of the epidermis with stomata. 1 — calcium oxalate druses; 2 — cells of the epidermis; 3 — stomata; 4 — simple unicellular hairs

веществом — лигнином (лигнифицированы), что повышает их жесткость. Проводящие элементы флоэмы на поперечном сечении мелкоклеточные, их протопласт слабо пигментирован.

Ксилема плодоножки двух видов лабазника схожа, она выражена слабо, представлена мелкими кольчатыми и спиральными сосудами (рис. 2, *a, c*).

Сердцевина плодоножки лабазника вязолистного крупноклеточная, ее клетки с лигнифицированными оболочками разноразмерные (рис. 2, *a*).

При рассмотрении эпидермиса плодов лабазника вязолистного диагностируются устьичные аппараты аномоцитного типа (рис. 3, *b*). Сквозь эпидермис хорошо просвечивается большое количество монокристаллов, расположенных в тканях. Изредка на поверхности эпидермиса встречаются простые одноклеточные (рис. 3, *a*).

У двух видов лабазника на поперечном сечении оболочка листочки (перикарпий) состоит из трех блоков тканей: эпидермальный, блок мезокарпия и эндокарпий.

На поперечном срезе клетки эпидермиса плодolistиков лабазника вязолистного широкопросветные, округлой формы, с целлюлозной оболочкой, незначительно кутинизированной с поверхности (рис. 4, *b*). Со стороны шва листочки двух видов лабазника локализован один крупный коллатеральный пучок конусовидной формы (рис. 4, *a, b*). Ксилема пучка развита слабо. Сосуды ксилемы мелкие, их оболочки лигнифицированы. Флоэмная часть

пучка крупнее ксилемной, проводящие элементы флоэмы мелкоклеточные, тонкостенные. С периферии флоэмной части пучок значительно армирован группой склеренхимных волокон (рис. 4, *a, b*). Волокна склеренхимы широкопросветные с видимыми остатками протопласта. Клеточные стенки волокон заметно утолщены и лигнифицированы.

По периферии эндокарпия лабазника вязолистного локализованы многочисленные призматические монокристаллы оксалата кальция (рис. 4, *d*).

Заключение

Таким образом, проведенные с использованием современных приборов морфолого-анатомические исследования плодов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного позволили обнаружить некоторые особенности их строения, которые ранее не были описаны в литературе.

В качестве основных диагностических признаков изученных объектов следует считать: для плодов лабазника — переходный тип строения стели плодоножек и наличие в них неравномерно расположенных лизигенных вместилищ, опушение эпидермиса простыми одноклеточными трихомами; трехслойную структуру перикарпия, значительное количество монокристаллов в паренхиме листочки, конусовидную форму проводящего пучка в области шва листочки. Для плодов лабазника шестилепестного характерны: ретортovidные волоски, составляющие густое опушение

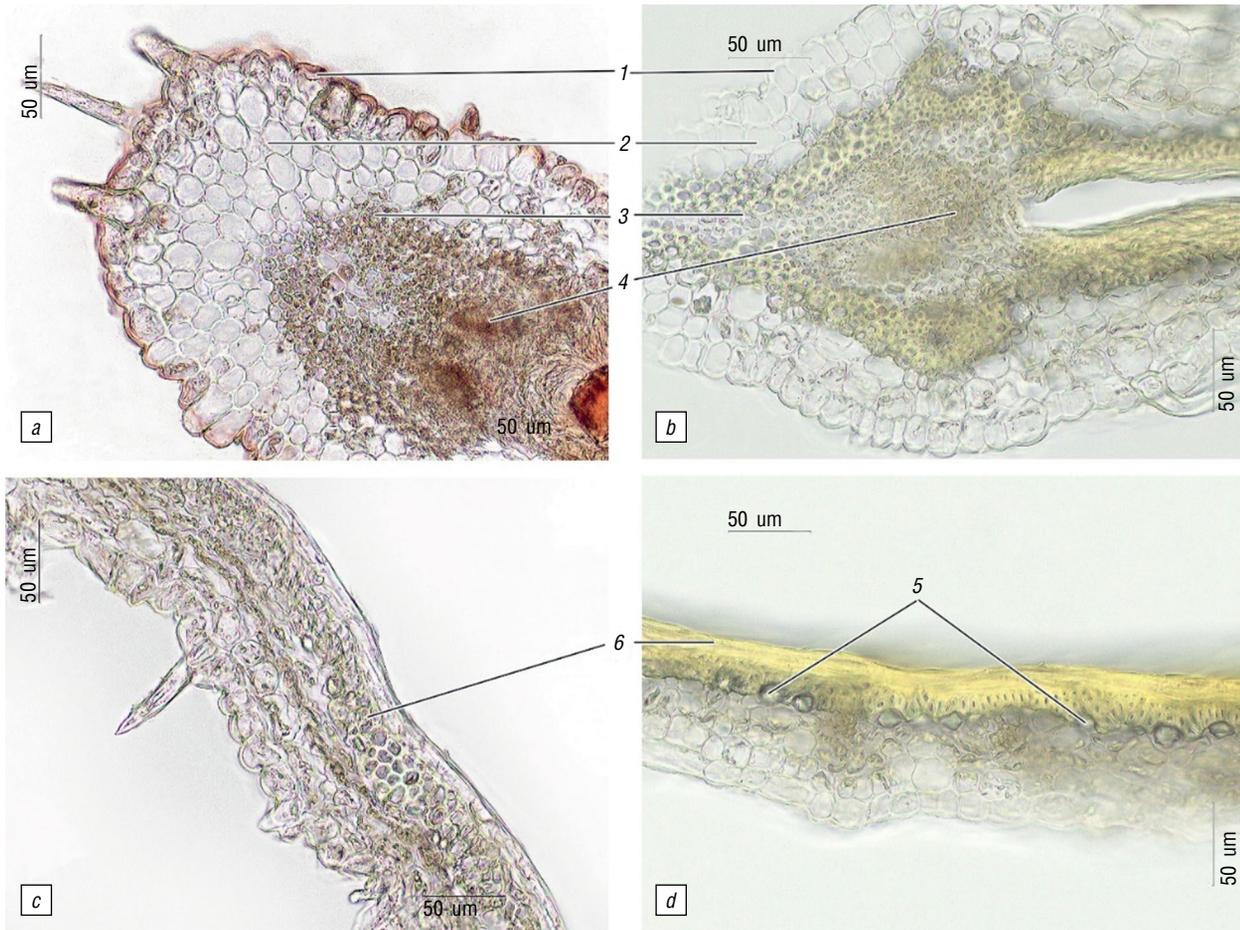


Рис. 4. Плодолистик (листочка) лабазника шестилепестного и лабазника вязолистного: *a* — жилка листочки лабазника шестилепестного на поперечном сечении, окрашенная 0,5 % раствором Судана III ($\times 400$); *b* — жилка листочки лабазника вязолистного на поперечном сечении, окрашенная 10 % раствором сернокислого анилина ($\times 400$); *c* — фрагмент перикарпия на поперечном сечении лабазника шестилепестного ($\times 400$); *d* — фрагмент перикарпия лабазника вязолистного на поперечном сечении, окрашенный 10 % раствором сернокислого анилина ($\times 400$). 1 — клетки эпидермиса; 2 — паренхима мезокарпия; 3 — склеренхима; 4 — ксилема; 5 — монокристаллы; 6 — слои склеренхимы эндокарпия

Fig. 4. The parmelia of the dropwort and meadowsweet: *a* — the vein of the dropwort parmelia on the cross-section stained with the solution of 0,5% of Sudan III ($\times 400$); *b* — the vein of the meadowsweet parmelia on the cross-section stained with the solution of 10% aniline sulfuric acid ($\times 400$); *c* — part of the pericarp on the cross-section of the dropwort ($\times 400$); *d* — part of the pericarp on the cross-section of the meadowsweet stained with the solution of 10% aniline sulfuric acid ($\times 400$). 1 — cells of the epidermis; 2 — parenchyma mesocarp; 3 — sclerenchyma; 4 — xylem; 5 — single crystals; 6 — layers of sclerenchyma of the endocarp

многолисточка; особенности проводящей системы листочки в виде одного крупного коллатерального пучка конусовидной формы, расположенного со стороны шва.

Результаты, полученные в ходе исследования, позволяют в дальнейшем разработать раздел «Микроскопические признаки» в проекте фармакопейной статьи на новое лекарственное растительное сырье «Лабазника вязолистного плоды» и «Лабазника шестилепестного плоды».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Авдеева Е.Ю., Шилова И.В., Коломиец Н.Э., Краснов Е.А. Анатомическая характеристика травы лабазника вязолистного // Фармация. 2008. № 2. С. 21–23.
2. Артюшенко З.Т. Атлас по описательной морфологии высших растений. Плод. Л.: Наука, 1987.
3. Бобров А.В., Меликян А.П., Романов М.С. Морфогенез плодов *Magnoliophyta*. М., 2009.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М., 2019.
5. Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. М., 2006.

6. Сазанова К.Н., Шарипова С.Х., Рыжов В.М. и др. Морфолого-анатомическое исследование плодов лабазника шестилепестного (*Filipendula hexapetala* Gilib.) // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 4. С. 213.
7. Сравнительная эмбриология цветковых растений. *Brunelliaceae – Tremandraceae* / отв. ред. С. Яковлев. Л.: Наука, 1985. С. 60–61.
8. Шайхутдинов И.Х., Куркин В.А., Правдивцева О.Е. и др. Морфолого-анатомическое исследование особенностей строения плодов боярышника полумягкого (*Crataegus submollis* Sarg.) // Аспирантский вестник Поволжья. 2020. № 1–2. С. 164–170. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.164-170
9. Шилова И.В., Самылина И.А., Суслов Н.И. Разработка ноотропных средств на основе растений Сибири. Томск, 2013.
10. Шилова И.В., Самылина И.А., Суслов Н.И. Стандартизация травы лабазника вязолистного // Фармация. 2012. № 2. С. 19–22.
2. Artyushenko ZT. Atlas po opisatel'noy morfologii vysshikh rasteniy: Plod. Leningrad: Nauka; 1987. (In Russ.)
3. Bobrov AV, Melikyan AP, Romanov MS. Morfogenez plodov *Magnoliophyta*. Moscow; 2009. (In Russ.)
4. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. XIV ed. Vol. 2. Moscow; 2019. (In Russ.)
5. Mayevskiy PF. Flora sredney polosy yevropeyskoy chasti Rossii. Moscow; 2006. (In Russ.)
6. Sazanova KN, Sharipova SKh, Ryzhov VM, et al. Morphological and anatomical studies of fruits of the dropwort (*Filipendula hexapetala* Gilib.). *Sovremennyye problem nauki i obrazovaniya*. 2016;(4):213. (In Russ.)
7. Sravnitel'naya embriologiya tsvetkovykh rastenii. *Brunelliaceae – Tremandraceae*. Ed. by S. Yakovlev. Leningrad: Nauka; 1985. P. 60–61.
8. Shaykhutdinov IKh, Kurkin VA, Pravdivtseva OY, et al. Fruits of *crataegus submollis* sarg.: morphological and anatomical study. *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya*. 2020;(1–2):164–170. (In Russ.) DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.164-170
9. Shilova IV, Samylina IA, Suslov NI. Development nootropic drugs on the basis of siberian plants. Tomsk; 2013. (In Russ.)
10. Shilova IV, Samylina IA, Suslov NI. Standardization of meadowsweet (*filipendula ulmaria*) herb. *Farmatsiya*. 2012;(2):19–22. (In Russ.)

References

1. Avdeyeva YeYu, Shilova IV, Kolomiyets NE, Krasnov EA. The anatomic characteristics of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*). *Farmatsiya*. 2008;(2):21–23. (In Russ.)

■ Информация об авторах

Ксения Николаевна Сазанова — кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: k.n.sazanova@samsmu.ru

Сафия Хакимовна Шарипова — кандидат химических наук, доцент кафедры химии Института фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: s.h.sharipova@samsmu.ru

■ Information about the authors

Ksenia N. Sazanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Senior lecturer, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: k.n.sazanova@samsmu.ru

Safia Kh. Sharipova — Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Department of Chemistry of the Institute of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: s.h.sharipova@samsmu.ru

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЦВЕТКОВ БАРХАТЦЕВ ОТКЛОНЕННЫХ

А.Е. Савельева, А.В. Куркина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Савельева А.Е., Куркина А.В. Актуальные проблемы стандартизации цветков бархатцев отклоненных // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 105–111. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.105-111>

Поступила: 04.08.2021

Одобрена: 30.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ Один из перспективных источников флавоноидов — цветки бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.). Цель исследования — разработка подходов к стандартизации цветков бархатцев отклоненных, заключающихся в определении подлинности данного сырья и количественного определения биологически активных соединений. В результате проведенного сравнительного хроматографического исследования в цветках бархатцев отклоненных обнаружено наличие флавоноидов с использованием детекции при длине волны 254 и 366 нм до и после проявления спиртовым раствором алюминия хлорида ($AlCl_3$). Разработана методика количественного определения патулитрина и патулетина в цветках бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание доминирующего флавоноида — патулитрина (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавона) в цветках бархатцев отклоненных варьирует от $5,11 \pm 0,18$ до $5,64 \pm 0,17$ %. Ошибка единичного определения патулитрина в цветках бархатцев отклоненных с доверительной вероятностью 95 % составляет $\pm 3,32$ %.

▪ **Ключевые слова:** бархатцы отклоненные; *Tagetes patula* L.; цветки; флавоноиды; хроматографический анализ; стандартизация.

CURRENT ISSUES OF STANDARDIZATION OF SPREADING MARIGOLD FLOWERS

A.E. Saveleva, A.V. Kurkina

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Saveleva AE, Kurkina AV. Current issues of standardization of spreading marigold flowers. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):105–111. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.105-111>

Received: 04.08.2021

Revised: 30.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ The spreading marigold (*Tagetes patula* L.) is a prospective source of flavonoids. The aim of the study is to develop methods of standardization of spreading marigold flowers, consisting in determining the identity of this raw material and the quantitative determination of biologically active compounds. As a result of a comparative chromatographic study, the presence of flavonoids was revealed at the wavelength of 254 and 366 nm before and after the reaction with the alcohol solution of aluminum chloride. The method of determination of patulitrin and patuletin in the spreading marigold flowers (*Tagetes patula* L.) with the use of high performance liquid chromatography was developed. The content of dominant flavonoid patulitrin in the flowers of *T. patula* varies from $5.11 \pm 0.18\%$ to $5.64 \pm 0.17\%$. The error of single determination of patulitrin in the spreading marigold flowers with confidence probability of 95% is $\pm 3.32\%$.

▪ **Keywords:** spreading marigold; *Tagetes patula* L.; flowers; flavonoids; chromatographic analysis; standardization.

Введение

В современной фармацевтической промышленности находит широкое применение лекарственное растительное сырье (ЛРС) для получения целого ряда лекарственных

растительных препаратов, эффективных для лечения многих заболеваний и оказывающих минимальные побочные действия. Особый интерес представляют лекарственные растения, содержащие флавоноиды, благодаря

широкому спектру их фармакологической активности [1–3].

Один из перспективных источников флавоноидов — цветки бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.) [4–6]. На сегодняшний день данный вид растительного сырья не является официальным, препаратов на его основе в Российской Федерации не зарегистрировано. В связи с этим актуальным считается вопрос стандартизации цветков бархатцев отклоненных, как перспективного вида ЛРС, основанной на определении количественного и качественного содержания доминирующей в них группы биологически активных соединений — флавоноидов.

Цель настоящего исследования — разработка методик качественного и количественного определения содержания флавоноидов в цветках бархатцев отклоненных методами хроматографического анализа.

Материалы и методы

Материалом исследования стали цветки бархатцев отклоненных сорта «Мандарин», собранные в августе-сентябре 2018 и 2019 гг. в Ботаническом саду Самарского университета в период массового цветения и плодоношения растения.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) осуществляли с использованием хроматографических пластинок Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ и системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25 : 18 : 2). Детекцию веществ на хроматограмме проводили при дневном свете, в УФ-свете при длине волны 254 нм и 366 нм (до и после проявления раствором алюминия хлорида).

Хроматографический анализ осуществляли методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») в следующих условиях: изократический режим, стальная колонка КАХ-6-80-4 (№ 2; 2 × 80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), подвижная фаза — ацетонитрил: 1 % раствор уксусной кислоты в воде в соотношении 3 : 7, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2500 мкл. Детекцию веществ осуществляли при длине волны 360 нм. Объемы инжестируемых проб — 4 мкл (патулитрин, патулетин и извлечение из цветков бархатцев отклоненных).

Для выделения флавоноидов использовали колоночную хроматографию на силикагеле L 40/100 (Чехия) с последующей перекристаллизацией (чистота веществ подтверждалась физико-химическими констан-

тами и УФ-спектроскопией). Для этих целей нами было получено извлечение из 150 г цветков бархатцев отклоненных сорта «Мандарин» с помощью 70 % этилового спирта в соотношении 1 : 5, которое упаривали под вакуумом, наносили на силикагель L 40/100 и высушивали. В качестве элюентов использовали хлороформ, а также смеси хлороформа и этилового спирта в соотношениях 99 : 1; 98 : 3; 97 : 5; 93 : 7; 90 : 10; 85 : 15; 80 : 20; 70 : 30 и 60 : 40. Элюаты делили на фракции, примерно одинакового объема (по 200 мл), затем упаривали под вакуумом.

Из фракций, полученных элюированием смесью хлороформа и этилового спирта в соотношении 60 : 40, выделили доминирующее вещество с величиной R_f около 0,4, а из фракций, где в качестве элюата выступала смесь хлороформа и этилового спирта в соотношении 93 : 7, выделили вещество с величиной R_f около 0,7.

Идентификацию выделенных соединений проводили на основании данных УФ-, ^1H ЯМР-, ^{13}C ЯМР-спектроскопии. Спектры ЯМР ^1H получали на приборе JNM-ECX 400 (399,78 МГц), спектры ЯМР ^{13}C — на приборе JNM-ECX 400 (100,52 МГц).

Результаты и их обсуждение

В результате хроматографических исследований нами были выделены флавоноиды, идентифицированные как патулитрин (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавона) и его агликон — патулетин (3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавонон) (рис. 1).

Патулитрин (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавона) (1). Кристаллическое вещество ярко желтого цвета, $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{13}$, т. пл. 250–252 °С (спирт этиловый). УФ-спектр (EtOH, λ_{max} , нм): 266, 382; +NaOAc 266, 384; +NaOAc + H_3BO_3 272, 400; + AlCl_3 276, 382 пл., 443; + AlCl_3 + HCl 275, 382 пл., 438; +NaOMe 303, 373, 445 (пл.).

Спектр ЯМР ^1H (399,78 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д.): 12,47 (1H, с, 5-OH-группа), 9,48 (3H, уш. с, 3-OH-группа, 7-OH-группа и 4'-OH-группа), 7,70 (1H, д, $J = 2,5$ Гц, H-2'), 7,52 (1H, дд, $J = 2,5$ и 8,5 Гц, H-6'), 6,92 (1H, с, H-8), 6,88 (1H, д, $J = 8,5$ Гц, H-5'), 5,11 (1H, д, $J = 7,12$ Гц, H-1'' глюкопиранозы), 3,75 (3H, с, OCH_3 при C-6), 3,3–4,6 (6H глюкопиранозы).

Спектр ЯМР ^{13}C (100,52 МГц, $\text{DMSO}-d_6$, δ , м.д.): 176,66 (C-4), 156,89 (C-7), 151,94 (C-5), 151,58 (C-9), 148,43 (C-4'), 148,22 (C-3'), 145,49 (C-3), 135,31 (C-6'), 132,32 (C-2'), 122,39 (C-1'), 120,56 (C-6), 116,08 (C-2), 115,93 (C-5'), 104,12 (C-10), 100,64 (C-1'' глюкозы), 77,75 (C-5''

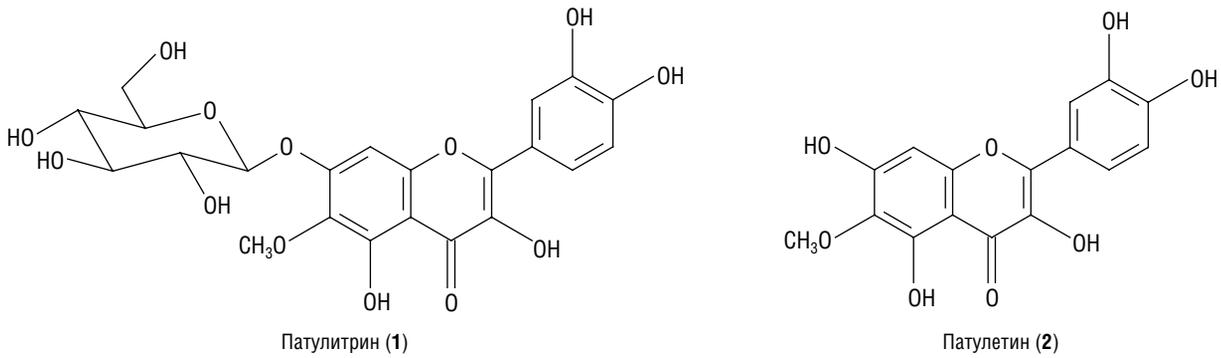


Рис. 1. Структурные формулы флавоноидов цветков бархатцев отклоненных

Fig. 1. The structural formulas of flavonoids of *Tagetes patula* L. flowers

глюкозы), 77,20 (C-3'' глюкозы), 73,72 (C-2'' глюкозы), 70,08 (C-4'' глюкозы), 61,15 (C-6'' глюкозы), 60,86 (CH₃O при C-6).

Патулетин (3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавонон) (2). Кристаллическое вещество ярко-желтого цвета, C₁₆H₁₂O₈; т. пл. 265–267 °С (водный спирт). УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 264, 296 пл., 378; +NaOAc 268, 382 +NaOAc + H₃BO₃ 270, 396; +AlCl₃ 274, 381 пл., 438; +AlCl₃ + HCl 275, 381 пл., 436; +NaOMe 328, 368 пл., 428 (пл.).

Спектр ЯМР ¹H (399,78 МГц, ДМСО-*d*₆, δ, м. д.): 12,54 (1H, с, 5-OH-группа), 10,65 (1H, с, 7-OH-группа), 9,56 (1H, с, 4'-OH-группа), 9,32 (1H, с, 3-OH-группа), 7,64 (1H, д, J = 2,5 Гц, H-2'), 7,50 (1H, дд, J = 2,5 и 8,5 Гц, H-6'), 6,85 (1H, д, J = 8,5 Гц, H-5'), 6,48 (1H, с, H-8), 3,73 (3H, с, OCH₃ при C-6).

Спектр ЯМР ¹³C (100,52 МГц, ДМСО-*d*₆, δ, м. д.): 176,56 (C-4), 157,50 (C-7), 152,27 (C-5), 151,84 (C-9), 148,24 (C-4'), 147,46 (C-3'), 145,49 (C-3), 135,31 (C-6'), 132,32 (C-2'), 122,39 (C-1'), 120,56 (C-6), 116,08 (C-2), 115,93 (C-5'), 104,12 (C-10), 60,52 (CH₃O при C-6).

При проведении анализа методом тонко-слойной хроматографии в качестве стандартов использовали не только вещества, выделенные из цветков бархатцев отклоненных, но и кверцетин, описанный ранее для цветков бархатцев отклоненных, причем этот флавоноид изучен в данной в работе в качестве потенциального стандартного образца при разработке методики определения подлинности сырья, так как кверцетин имеет значение R_f около 0,7, соответствующее значению R_f патулетина.

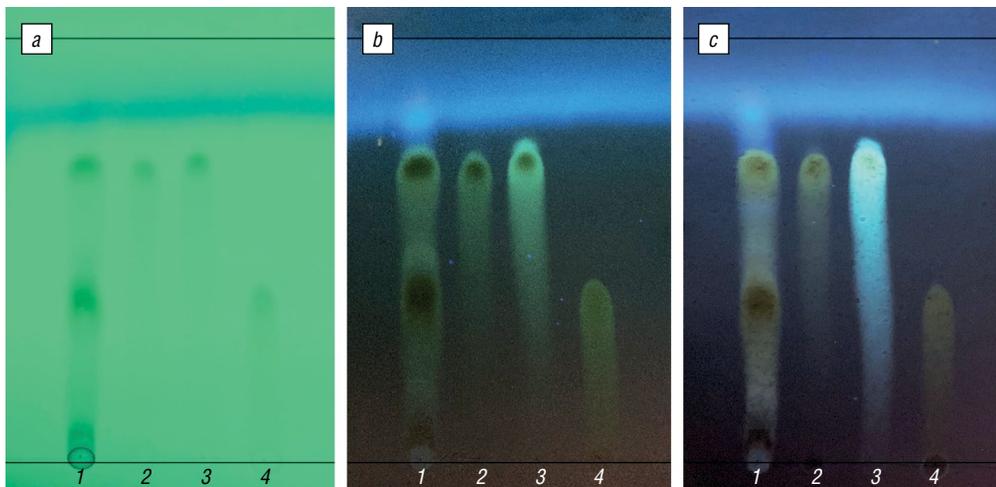


Рис. 2. Хроматограмма анализа водно-спиртового извлечения цветков бархатцев отклоненных в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25 : 18 : 2). Детекция в УФ-свете при длине волны 254 нм (a); 366 нм (b); 366 нм после обработки спиртовым раствором AlCl₃ (c). 1 — настойка цветков бархатцев отклоненных; 2 — патулетин; 3 — кверцетин; 4 — патулитрин

Fig. 2. The chromatogram of the analysis of water-alcohol extraction of *Tagetes patula* L. flowers in the system of solvents chloroform – ethanol – water (25:18:2). Detection in UV light at the wavelength of 254 nm (a); 366 nm (b); 366 nm in the presence of alcohol solution of AlCl₃ (c). 1 — tincture of *Tagetes patula* L. flowers; 2 — patuletin; 3 — quercetin; 4 — patulitrin

Определено, что наиболее информативными являются хроматограммы, полученные в системе растворителей: хлороформ – этанол – вода (25 : 18 : 2), просматриваемые при длине волны 366 нм до и после обработки спиртовым раствором алюминия хлорида (рис. 2).

Принимая во внимание то обстоятельство, что патулитрин и патулетин являются доминирующими флавоноидными компонентами цветков бархатцев, считаем целесообразным проводить оценку количественного содержания данных флавоноидов в изучаемом растительном сырье.

Пробоподготовка для извлечения из цветков бархатцев отклоненных. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещали в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл 70 % этанола. Колбу закрывали пробкой и взвешивали на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$. Колбу присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 45 мин. Затем колбу охлаждали в течение 30 мин, закрывали той же пробкой, снова взвешивали и восполняли недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтровали через бумажный фильтр (красная полоса) и затем дополнительно через мембранный фильтр Milipore (0,45 мкм) (испытываемый раствор).

Приготовление стандартного раствора патулитрина. Около 0,05 г (точная навеска) предварительно высушенного патулитрина (содержание основного вещества ≥ 98 %) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70 % этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Приготовление стандартного раствора патулетина. Около 0,05 г (точная навеска) предварительно высушенного патулетина (содержание основного вещества ≥ 98 %) переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 70 % этаноле и доводили объем раствора до метки тем же растворителем.

Определено, что в указанных условиях хроматографирования при использовании системы ацетонитрил – вода в соотношении 3 : 7 и УФ-детектировании при 360 нм возможно идентифицировать анализируемые компоненты — патулитрин и патулетин (рис. 3–5).

Методом ВЭЖХ фиксировали время удерживания пиков веществ в рабочих стандартных образцах, а также в извлечении из цветков бархатцев отклоненных (табл. 1).

Добавление раствора патулитрина и патулетина в извлечение проявляется на хроматограмме увеличением интенсивности пика патулитрина и пика патулетина соответственно

по сравнению с таковой флавоноидов в исходном испытуемом растворе.

Методика количественного определения патулитрина и патулетина в цветках бархатцев отклоненных. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 3 мм. Около 1 г (точная навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл 70 % этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до 0,01. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 45 мин. Затем колбу охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (испытываемый раствор).

В жидкостной хроматограф «Милихром-6» (НПАО «Научприбор») с УФ-детектором вводят 4 мкл полученного раствора. Хроматографируют в условиях обращенно-фазовой хроматографии в изократическом режиме на стальной колонке КАХ-6-80-4 (№ 2; 2×80 мм; Сепарон-С18 7 мкм), элюентная система — ацетонитрил/вода в соотношении 3 : 7 с добавлением 1 % уксусной кислоты, скорость элюирования — 100 мкл/мин, объем элюента — 2500 мкл, объем пробы испытуемого раствора — 4 мкл.

Проводят УФ-детектирование при длине волны 360 нм, диапазон чувствительности 0,5. Проводят не менее 3 параллельных определений.

Параллельно 4 мкл раствора патулитрина, а также раствор патулетина вводят в хроматограф и хроматографируют, как описано выше. Проводят определение площади пика патулитрина и патулетина, рассчитывают среднюю площадь пика по результатам 3 определений.

Определяют время удерживания и идентифицируют пик патулитрина и патулетина на хроматограмме испытуемого раствора. Вычисляют площадь пика патулитрина и патулетина на хроматограмме и рассчитывают среднюю площадь пика по 3 параллельным определениям.

Содержание патулитрина в цветках бархатцев отклоненных в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S \cdot m_0 \cdot V \cdot V_2 \cdot 100 \cdot 100}{S_0 \cdot m \cdot V_0 \cdot V_1 \cdot (100 - W)},$$

где S — среднее значение площади пика патулитрина (или патулетина) испытуемого раствора, вычисленное из хроматограмм

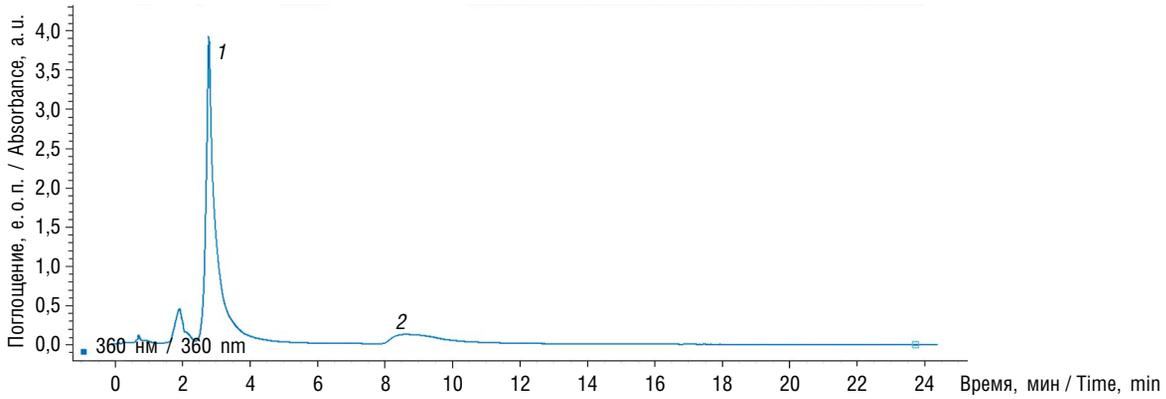


Рис. 3. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма извлечения из цветков бархатцев отклоненных: 1 — патулитрин; 2 — патулетин

Fig. 3. HPLC chromatogram of water-alcohol extraction from *Tagetes patula* L. flowers: 1 — patulitrin; 2 — patuletin

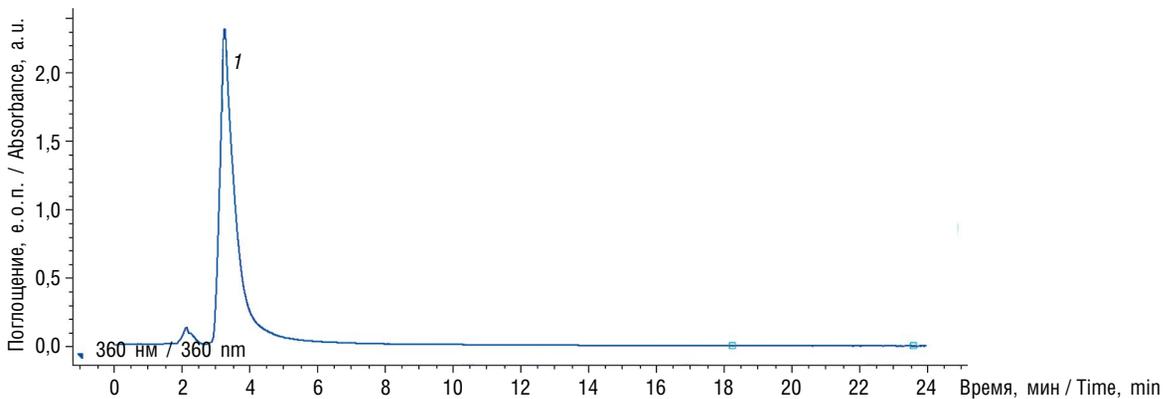


Рис. 4. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма патулитрина (1)

Fig. 4. HPLC chromatogram of patulitrin (1)

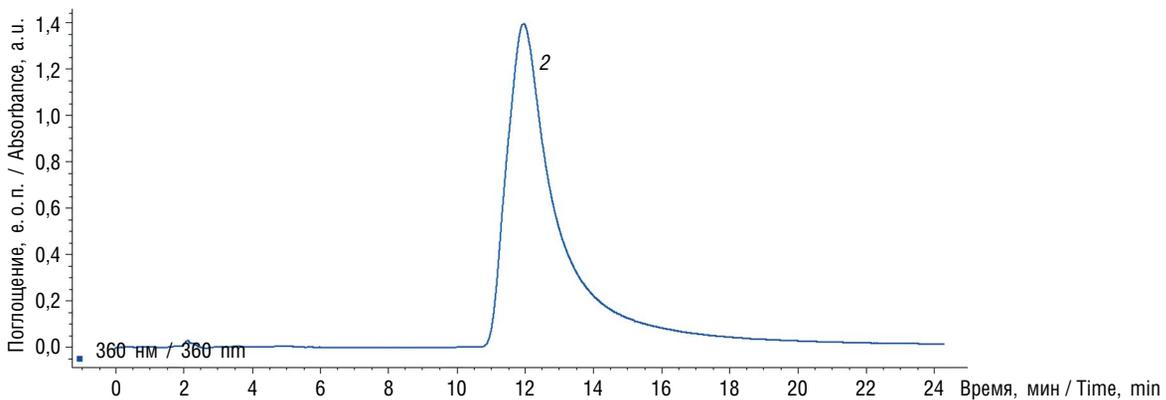


Рис. 5. Высокоэффективная жидкостная хроматограмма патулетина (2)

Fig. 5. HPLC chromatogram of patuletin (2)

Таблица 1 / Table 1

Время удерживания пиков флавоноидов цветков бархатцев отклоненных
The retention time of peaks of flavonoid in *Tagetespatula* L. flowers

| Флавоноид | Время удерживания на хроматограмме, мин | |
|------------|---|------------|
| | стандартный образец | извлечение |
| Патулитрин | 3,188 | 3,009 |
| Патулетин | 10,770 | 11,385 |

Таблица 2 / Table 2

Содержание патулитрина в цветках бархатцев отклоненных (сорт «Мандарин»)

The content of patulitrin and patuletin in water-alcohol extraction from *Tagetes patula* L. flowers (variety "Tangerine")

| Образец сырья | Содержание патулитрина, % | Содержание патулетина, % |
|--|---------------------------|--------------------------|
| Цветки бархатцев отклоненных (г. Самара, Ботанический сад Самарского университета, август 2018 г.) | 5,28 ± 0,17 | 0,0063 |
| Цветки бархатцев отклоненных (г. Самара, Ботанический сад Самарского университета, сентябрь 2018 г.) | 5,11 ± 0,18 | 0,0023 |
| Цветки бархатцев отклоненных (г. Самара, Ботанический сад Самарского университета, август 2019 г.) | 5,64 ± 0,17 | 0,0143 |

Таблица 3 / Table 3

Метрологические характеристики методики количественного определения патулитрина в цветках бархатцев отклоненных
Metrological characteristics of the method for the quantitative determination of patulitrin in *Tagetes patula* L. flowers

| Образец | <i>f</i> | X_{cp} | <i>S</i> | <i>P</i> , % | <i>t</i> (<i>P</i> , <i>f</i>) | ΔX | <i>E</i> , % |
|---|----------|----------|----------|--------------|----------------------------------|------------|--------------|
| Извлечение из цветков бархатцев отклоненных | 10 | 5,12 | 0,3808 | 95 | 2,23 | ±0,17 | ±3,32 |

раствора испытуемого образца; S_0 — среднее значение площади пика раствора рабочего стандартного образца (PCO) патулитрина (или PCO патулетина), вычисленное из хроматограмм раствора PCO патулитрина (или PCO патулетина); *V* — объем извлечения, мл; V_1 — объем вводимой пробы раствора испытуемого образца, мкл; V_0 — объем раствора PCO патулитрина (или PCO патулетина), мл; V_2 — объем вводимой пробы раствора PCO патулитрина (или PCO патулетина), мкл; *m* — масса сырья, г; m_0 — масса PCO патулитрина (или PCO патулетина), г; *W* — потеря в массе при высушивании сырья, %.

Содержание патулетина в цветках бархатцев отклоненных в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (*X*) вычисляют по аналогичной формуле (табл. 2).

Поскольку содержание патулетина в цветках бархатцев отклоненных значительно ниже содержания патулитрина, целесообразно стандартизировать данное сырье только по содержанию патулитрина.

Метрологические характеристики разработанной методики ВЭЖХ-анализа патулитрина свидетельствуют, что ошибка единичного определения содержания патулитрина в цветках бархатцев отклоненных с доверительной вероятностью 95 % составляет +3,32 % (табл. 3).

Заключение

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации цветков бархатцев отклоненных путем определения на-

личия в них диагностически значимых флавоноидов — патулитрина и патулетина методом ТСХ, а также количественного содержания доминирующего флавоноида — патулитрина с использованием метода ВЭЖХ и детектированием на УФ-детекторе при длине волны 360 нм.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Зайцева Е.Н., Дубищев А.В., Куркин В.А. Анализ влияния рутина и гравитационного воздействия на выделительную функцию почек // Наука и инновации в медицине. 2016. № 4. С. 47–50.
2. Зименкина Н.И., Куркин В.А. Разработка подходов к стандартизации коры ореха черного // Аспирантский вестник Поволжья. 2020. № 1–2. С. 131–136. DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.131-136
3. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. Самара, 2012.
4. Ломкина Е.М., Червонная Н.М., Оганесян Э.Т. и др. Влияние экстракта бархатцев на заживление ран при сахарном диабете // Фармация. 2016. Т. 65, № 3. С. 37–39.
5. Червонная Н.М., Андреева О.А., Аджихметова С.Л., Оганесян Э.Т. О содержании фенольных соединений в соцветиях бархатцев распространенных (*Tagetes patula* L.) // Химия растительного сырья. 2018. № 3. С. 91–98. DOI: 10.14258/jcprm.2018033714
6. Deepshikha K., Yashodhara V. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging activity of *Tagetes patula* // Annual Research and Review in Biology. 2017. Vol. 13, No. 6. P. 1–8. DOI: 10.9734/ARRB/2017/34349

References

1. Zaitceva EN, Dubishchev AV, Kurkin VA. Analysis of influence of rutin and gravity action on the renal excretory function. *Nauka i innovacii v medicine*. 2016;(4):47–50. (In Russ.)
2. Zimenkina NI, Kurkin VA. Development of approaches to standardization of black walnut bark. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2020;(1–2):131–136. (In Russ.). DOI: 10.17816/2072-2354.2020.20.1.131-136
3. Kurkina AV. Flavonoidy farmakopejnyh rastenij: monografiya. Samara; 2012. (In Russ.)
4. Lomkina EM, Chervonnaya NM, Oganessian ET, et al. Tyurenkov effect of french marigold (*Tagetes patula* L.) extract on wound healing in diabetes mellitus. *Farmatziia*. 2016;65(3):37–39. (In Russ.)
5. Chervonnaya NM, Andreeva OA, Adzhiakhmetova SL, Oganessian ET. On the content of phenolic compounds in the concentrations of the *Tagetes patula* L. *Chemistry of plant raw material*. 2018;(3):91–98. (In Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2018033714
6. Deepshikha K, Yashodhara V. Evaluation of antioxidant and free radical scavenging activity of *Tagetes patula*. *Annual Research and Review in Biology*. 2017;13(6):1–8. DOI: 10.9734/ARRB/2017/34349

■ Информация об авторах

Анна Евгеньевна Савельева — аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: savelieva1997@mail.ru

Анна Владимировна Куркина — доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической технологии с курсом биотехнологий. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

■ Information about the authors

Anna E. Saveleva — Postgraduate student, Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: savelieva1997@mail.ru

Anna V. Kurkina — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Pharmaceutical Technologies with the Course of Biotechnologies. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ БИОМАССЫ *SPIRULINA PLATENSIS*

А.А. Косенко, С.В. Первушкин, Н.Н. Желонкин, А.В. Куркина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Косенко А.А., Первушкин С.В., Желонкин Н.Н., Куркина А.В. Актуальные аспекты стандартизации биомассы *Spirulina platensis* // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 112–117. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.112-117>

Поступила: 14.07.2021

Одобрена: 19.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ Спирулина пищевая [*Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl.] — сине-зеленая многоклеточная нитчатая микроскопическая водоросль, широко культивируемая во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации. Цель настоящего исследования — разработка подходов к стандартизации биомассы спирулины пищевой. В результате проведенных исследований разработаны подходы к стандартизации спирулины пищевой, заключающиеся в определении содержания β -каротина, фикоцианина и белков с использованием тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии. Определено, что содержание β -каротина в образцах биомассы спирулины в пересчете на абсолютно сухое сырье варьирует от 63,0 до 94,0 мг%, фикоцианина — от 3,50 до 4,30 % и белка — от 53,50 до 61,09 %. Установлено, что β -каротин, С-фикоцианин и белок являются важнейшими диагностически значимыми биологически активными соединениями биомассы спирулины пищевой. Рассмотренные в настоящей работе аналитические аспекты исследования биомассы спирулины пищевой могут быть использованы как обоснование производства лекарственных препаратов на ее основе.

■ **Ключевые слова:** спирулина пищевая; *Spirulina platensis*; биомасса; каротиноиды; фикоцианин; белок; тонкослойная хроматография; спектрофотометрия; стандартизация.

CURRENT ASPECTS OF STANDARDIZATION OF *SPIRULINA PLATENSIS* BIOMASS

A.A. Kosenko, S.V. Pervushkin, N.N. Zhelonkin, A.V. Kurkina

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Kosenko AA, Pervushkin SV, Zhelonkin NN, Kurkina AV. Current aspects of standardization of *Spirulina platensis* biomass. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):112–117. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.112-117>

Received: 14.07.2021

Revised: 19.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ The food spirulina [*Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl.] is a blue-green multicellular filamentous microscopic alga widely cultivated in many countries of the world, including the Russian Federation. The aim of this study is to develop approaches to the standardization of biomass of *Spirulina platensis*. As a result of the conducted research, approaches to the standardization of biomass of *Spirulina platensis* have been developed. It is aimed to determine the content of β -carotene, phycocyanin and proteins by using TLC and spectrophotometry. It was determined that the content of β -carotene in the samples of biomass of *Spirulina platensis* calculated on absolutely dry raw material varies from 63.0 mg% to 94.0 mg%, phycocyanin from 3.50% to 4.30% and protein from 53.50% to 61.09%. It was established that β -carotene, C-phycocyanin and protein were the most important diagnostically significant biologically active compounds of the biomass of *Spirulina platensis*. The analytical aspects of the study of *Spirulina platensis* biomass considered in this paper are the scientific basis for the substantiation of the creation of pharmaceuticals based on it.

■ **Keywords:** spirulina; *Spirulina platensis*; biomass; carotenoids; phycocyanin; protein; thin-layer chromatography; spectrophotometry; standardization.

Введение

Спирулина пищевая [*Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. = syn. *Arthrospira platensis*] — сине-зеленая многоклеточная нитчатая ми-

кроскопическая водоросль, древнейшее реликтовое растение (возраст около 500 млн лет). Следует отметить, что в литературе до сих пор не сложился русский эквивалент

видового наименования. Впервые видовое название «Спирулина пищевая» ввел профессор В.А. Куркин в 2009 г. на основе терминологического анализа французского слова *platensis* — пищевой [5].

Ареал спирулины — Африка (оз. Чад), Юго-Восточная Азия и Южная Америка, где местное население издавна употребляло ее в пищу. С 70-х годов XX в. эту водоросль широко культивируют во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации (Москва, Самара, Сочи и др.) [1–4, 6–8].

Спирулина — необычное растение: она относится к прокариотам и подобно бактериям не имеет четко обособленного клеточного ядра, окруженного ядерной оболочкой. Метаболизм спирулины, как и других сине-зеленых водорослей, во многом аналогичен метаболизму бактерий, поэтому их часто называют цианобактериями. Уникально также сочетание в спирулине двух свойств: способности к фотосинтетической продукции кислорода и фиксации атмосферного азота [7].

Фитомасса спирулины содержит белки (около 60 %), каротиноиды (30–180 мг%), витамины С, Е, В₁, В₂, В₆, В₁₂, фолиевую кислоту, свободные аминокислоты, полиненасыщенные жирные кислоты, эссенциальные фосфолипиды, микро- и макроэлементы (калий, натрий, магний, кальций, железо, цинк, йод и др.), полисахариды (около 15 %), представленные гликогеном [7]. Интересно, что наличие гликогенподобного вещества подтверждает эволюционное родство спирулины с животным миром. Среди пигментов (кроме каротиноидов и хлорофилла) особое значение имеет уникальное вещество белковой природы — С-фикоцианин (9–15 %), с которым связывают антиоксидантные свойства и перспективу применения фитомассы спирулины для лечения онкологических заболеваний. Уникальный химический состав, включая высокое содержание белков (60 %), объясняет пищевую значимость спирулины, что, видимо, и нашло отражение в видовом латинском названии данной сине-зеленой микроводоросли.

Биомасса спирулины широко используется для производства различных БАДов, продуктов питания и лечебно-профилактических средств, однако, на наш взгляд, более актуальны исследования по созданию лекарственных растительных препаратов, отвечающих параметрам доказательной медицины. По нашим данным, в настоящее время доказательными целесообразно рассматривать регенерирующие и общеукрепляющие свойства. Фитомасса спирулины является перспективным лечебно-

профилактическим средством, однако популярность данной водоросли пока, к сожалению, не подкреплена надежными методами стандартизации, позволяющими оценивать подлинность и качество продукции.

Интересно, что в биомассе *S. platensis* представлены практически все водо- и жирорастворимые витамины, однако данные по их количественному содержанию довольно противоречивы, что связано с использованием различных методов определения, а также влиянием условий культивирования на биосинтетические процессы.

Цель исследования — разработка подходов к стандартизации биомассы спирулины пищевой.

Материалы и методы

Материалом исследования были образцы спирулины пищевой, культивируемой в ИП «Поиск» (г. Самара).

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) осуществляли с использованием хроматографических пластинок Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ и систем растворителей: хлороформ – этанол – вода (26 : 16 : 3), *n*-бутанол – уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2), хлороформ – этанол (19 : 1). Детекцию веществ на хроматограмме осуществляли при дневном свете, в УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм (до и после проявления раствором алюминия хлорида), а также проявлением щелочным раствором диазобензолсульфокислоты. Регистрацию электронных спектров проводили с помощью спектрофотометра Sperecord 40 (Analytik Jena AG, Германия) в диапазоне длин волн 190–700 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Результаты и их обсуждение

При разработке методик качественного и количественного анализа биомассы спирулины за основу взяты подходы к стандартизации, которые позволяют объективно оценивать подлинность и качество данного сырья.

На наш взгляд, к надежным диагностически значимым химическим показателям качества биомассы спирулины целесообразно относить содержание каротиноидов, фицианина и общего белка.

В результате проведенных исследований разработана методика ТСХ-анализа каротиноидов и хлорофилла: выбраны оптимальные условия хроматографирования, позволяющие эффективно разделять и идентифицировать данные соединения. В результате проведенных

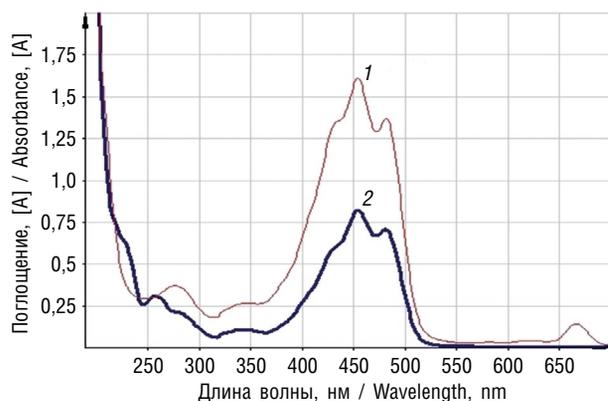


Рис. 1. Электронные спектры гексанового раствора суммы каротиноидов, полученных из биомассы спирулины (1), и испытуемого раствора после очистки на Al_2O_3 (2)

Fig. 1. Electronic spectra of the hexane solution of the total carotenoids obtained from the biomass of *Spirulina platensis* (1) and the test solution after the purification on Al_2O_3 (2)

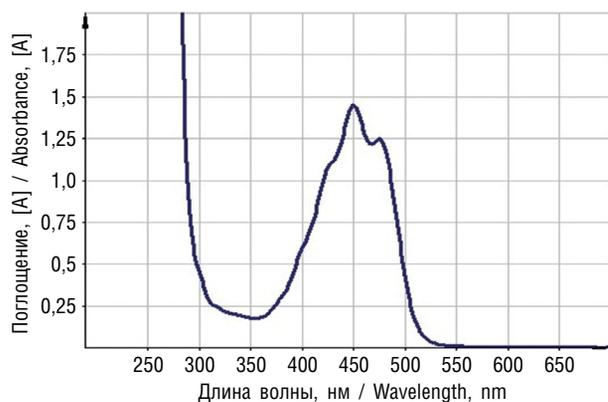


Рис. 2. Электронный спектр гексанового раствора β -каротина

Fig. 2. Electronic spectra of hexane solution of β -carotene

экспериментов с различными хроматографическими системами предпочтение было отдано системе хлороформ – этанол в соотношении 19 : 1. На хроматограммах обнаружены доминирующее пятно желтого цвета с величиной R_f около 0,8 (β -каротин) и пятно зеленого цвета с величиной R_f около 0,9 (хлорофилл А).

Доминирующий каротиноид биомассы *S. platensis* — β -каротин, содержание которого составляет от 30 до 60 % общей суммы всех каротиноидов [7]. В этой связи принципиально важным является определение в биомассе не суммы каротиноидов, а β -каротина.

В результате проведенных исследований определено, что оптимальным экстрагентом служит ацетон, обеспечивающий полностью извлечения каротиноидов из биомассы

спирулины и возможность последующей рекстракции в другой неполярный растворитель, например *n*-гексан.

В соответствии с этим в разработанной методике спектрофотометрического определения β -каротина экстракцию из биомассы *Spirulina platensis* проводили ацетоном, выделенные каротиноиды переводили в слой *n*-гексана. Полученный гексановый раствор подвергали хроматографической очистке на оксиде алюминия II степени активности по Брокману, обеспечивающей отделение β -каротина от сопутствующих пигментов, поглощающих при аналитической длине волны 450 нм. Объективным критерием полноты очистки испытуемого раствора считали схожесть электронных спектров поглощения гексанового раствора после очистки фильтрацией через слой алюминия оксида (рис. 1) и спектров поглощения рабочего стандартного образца β -каротина (рис. 2).

Расчет количественного содержания β -каротина проводили с использованием удельного показателя поглощения рабочего стандартного образца β -каротина (2773) в *n*-гексане при длине волны 450 нм.

Методика количественного определения β -каротина в биомассе спирулины. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм. Около 1,0 г измельченного сырья (точная навеска) тщательно перемешивают в течение 10 мин с 10 мл ацетона в стеклянной колбе со шлифом при комнатной температуре и центрифугируют в течение 15 мин при 8000 об/мин. Надосадочную жидкость декантируют. Осадок ресуспендируют 10 мл ацетона, тщательно перемешивают и центрифугируют при 8000 об/мин (операции повторяют дважды). Ацетоновые экстракты объединяют, фильтруют под вакуумом через стеклянный фильтр ПОР-16. Фильтр промывают ацетоном, объединенный экстракт количественно переносят в делительную воронку, куда добавляют 10 мл воды очищенной. Каротиноиды из водно-ацетонового раствора извлекают последовательно 20, 10 и 10 мл *n*-гексана, каждый раз после встряхивания оставляя смесь до полного разделения слоев. После расслаивания нижний водно-ацетоновый слой сливают и отбрасывают.

Содержание β -каротина в пересчете на абсолютно сухое сырье в мг% (X) вычисляют по соответствующей формуле [7, 8].

Определено, что содержание β -каротина в образцах биомассы спирулины в пересчете на абсолютно сухое сырье варьирует от 63,0 до 94,0 мг%.

Наряду с анализом β -каротина важным является определение диагностически значимого биологически активного соединения — фикоцианина, представляющего собой водорастворимый фикобилипротеиновый пигмент. Следовательно, идентификация и количественное определение специфического пигмента фикоцианина в биомассе спирулины — один из ключевых моментов в определении ее подлинности.

Для определения содержания фикоцианина предложен спектрофотометрический метод — обнаружение характерного максимума поглощения при 620 ± 2 нм (рис. 3). Выбор данного максимума поглощения обусловлен способом выделения фикоцианина, так как присутствующие в водном извлечении спирулины водорастворимые белки значительно поглощают в УФ-области (около 270 и 360 нм), максимум при 620 нм, и не являются характерными для фикоцианина (рис. 4). В качестве экстрагента нами предложен фосфатный буфер (рН 7,0), позволяющий, с одной стороны, исчерпывающе извлекать фикоцианин (рис. 5), а с другой — обеспечивать его стабильность.

Некоторые авторы отмечают наличие у фикоцианина двух максимумов в спектре поглощения — 360 и 620 нм, другие — только один при 620 нм. В отдельных исследованиях указывается также на существование максимума при 278 нм [7]. Данные различия, очевидно, обусловлены использованием различных методических подходов к выделению фикоцианина, характером экстрагента, а также условиями культивирования спирулины.

По калибровочному графику был определен удельный показатель поглощения 8,97, который в дальнейшем использовался при расчетах результатов количественного определения.

Методика количественного определения фикоцианина в биомассе спирулины. Аналитическую пробу сырья экстрагируют ацетоном в аппарате Сокслета до прекращения окрашивания последнего. Затем пробу высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре до постоянной массы, измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 0,5 мм. Около 0,5 г сырья (точная навеска) перемешивают на магнитной мешалке в течение 30 мин с 30 мл фосфатного буферного раствора и центрифугируют в течение 15 мин при 8000 об/мин. Надосадочную жидкость переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл. Осадок ресуспендируют 10 мл фосфатного буферного раствора, тщательно перемешивают и центрифугируют при 8000 об/мин (операцию повторяют). Надосадочную жидкость переносят в мерную

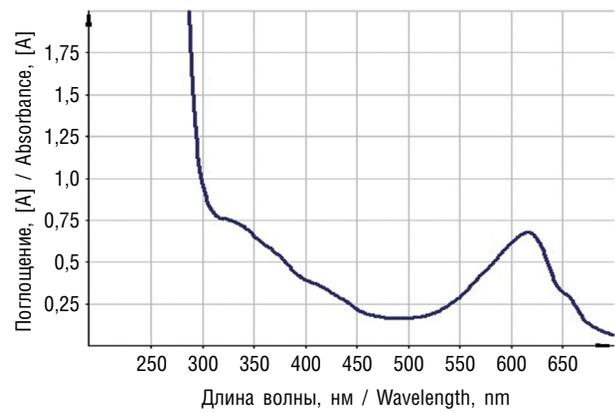


Рис. 3. Электронный спектр раствора фикоцианина, полученного из биомассы *Spirulina platensis*

Fig. 3. Electronic spectra of phycocyanin solution, obtained from *Spirulina platensis* biomass

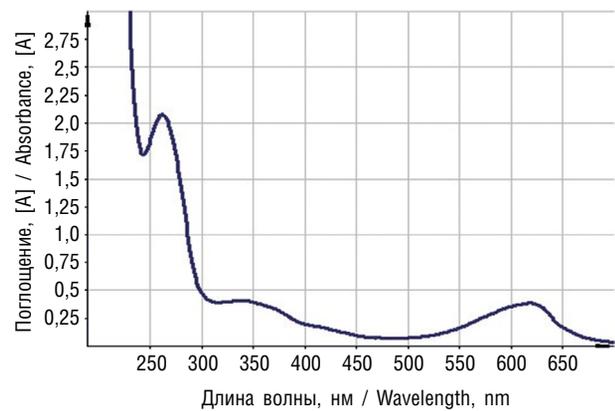


Рис. 4. Электронный спектр растворов водного извлечения из биомассы *Spirulina platensis*

Fig. 4. Electronic spectrum of solutions of water extraction from *Spirulina platensis* biomass

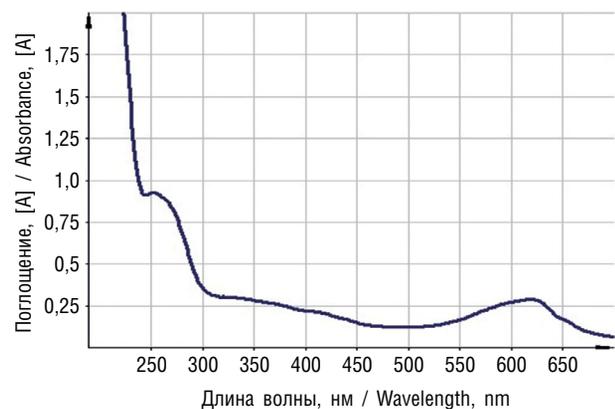


Рис. 5. Электронный спектр испытуемого раствора, полученного с использованием фосфатного буфера из биомассы *Spirulina platensis*

Fig. 5. Electronic spectrum of the test solution obtained with the use of phosphate buffer from *Spirulina platensis* biomass

колбу, доводят объем фосфатным буферным раствором до 50 мл и перемешивают. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора при длине волны 620 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют фосфатный буферный раствор.

Содержание фикоцианина в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по соответствующей формуле [7, 8].

Определено, что содержание фикоцианина в образцах биомассы спирулины в пересчете на абсолютно сухое сырье варьирует от 3,50 до 4,30 %.

На наш взгляд, в плане стандартизации биомассы спирулины, а также лекарственных препаратов на ее основе актуальным также является необходимость количественного определения не только β -каротина и фикоцианина, но и общего белка. В этой связи нами предложена методика количественного определения в биомассе спирулины общего белка [7].

Методика количественного определения белка в биомассе спирулины. Осадок после центрифугирования, полученный в методике количественного определения β -каротина, высушивают в вытяжном шкафу при комнатной температуре в течение 20–30 мин. Около 0,1 г (точная навеска) осадка ресуспендируют с помощью 10 мл воды очищенной при комнатной температуре. Гомогенат центрифугируют при 8000 об/мин в течение 15 мин. Надосадочную жидкость декантируют. К 1 мл надосадочной жидкости прибавляют 4 мл биуретового реактива, перемешивают и оставляют на 30 мин при комнатной температуре. Оптическую плотность раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь 1 мл воды очищенной и 4 мл биуретового реактива. Калибровочный график строят в пределах концентрации от 1 до 10 мг/мл стандартного образца белка используют сывороточный альбумин человека.

Содержание белка в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по соответствующей формуле [7]. Определено, что содержание белка в образцах биомассы спирулины в пересчете на абсолютно сухое сырье варьирует от 53,50 до 61,09 %.

Заключение

В результате проведенных исследований разработаны подходы к стандартизации спирулины пищевой, заключающиеся в опреде-

лении содержания β -каротина, фикоцианина и белков с использованием ТСХ и спектрофотометрии.

Установлено, что β -каротин, С-фикоцианин и белок служат важнейшими диагностически значимыми биологически активными соединениями биомассы спирулины пищевой. Рассмотренные в настоящей работе аналитические аспекты исследования биомассы спирулины пищевой могут быть использованы как обоснование производства лекарственных препаратов на ее основе.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Береговая Н.М. Способы получения и использования С-фикоцианина (обзор) // Экология моря. 2010. Т. 80. С. 12–16.
2. Воронин А.В., Первушкин С.В., Шаталаев И.Ф. Влияние различных источников углерода на рост культуры *Spirulina platensis* // Вестник СамГУ. Естественнонаучная серия. 2006. № 2(42). С. 161–167.
3. Вимер И., Вайнтрауб И.А. Фикобилипротеины из сине-зеленых водорослей // Известия АН МССР. 1987. № 4. С. 20–23.
4. Кедик С.А., Ярцев Е.И., Панов А.В. Спирулина — пища XXI века. М., 2010.
5. Куркин В.А. Основы фитотерапии: учебное пособие. Самара, 2009.
6. Парчевская Д.С., Дробецкая И.В., Минюк Г.С. Системные характеристики *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler в промышленных условиях // Экология моря. 2002. Т. 60. С. 71–74.
7. Первушкин С.В., Воронин А.В., Сохина А.А. Биомасса спирулины: исследования и перспективы использования. Самара, 2004.
8. Первушкин С.В., Маркова И.И., Куркин В.А., Желонкин Н.Н. Разработка методик количественного определения содержания β -каротина и фикоцианина в биомассе спирулины пищевой (*Spirulina platensis*) // Фундаментальные исследования. 2013. № 8–6. С. 1426–1429.

References

1. Beregovaya NM. Methods of C-phycocyanin receiving and its use (review). *Ecologiya moray*. 2010;80:12–16. (In Russ.)
2. Voronin AV, Pervushkin SV, Shatalaev IF. Vliianie razlichnykh istochnikov ugleroda na rost kultury *Spirulina platensis*. *Vestnik of Samara University. Natural Science*. 2006;(2(42)):161–167. (In Russ.)
3. Vimer I, Weintraub IA. Fikobiliproteiny iz sine-zelnykh vodoroslei. *Izvestiya. AN MSSR*. 1987;(4):20–23. (In Russ.)

4. Kedik SA, Yartsev EI, Panov AV. *Spirulina* – pishcha XXI veka. Moscow; 2010. (In Russ.)
5. Kurkin VA. Fundamentals of phytotherapy: textbook. Samara; 2009. (In Russ.)
6. Parchevskaya DS, Drobetskaya IV, Minyuk GS. System characteristics of *Spirulina platensis* (nordst.) geitler under industrial conditions. *Ecologiya morya*. 2002;60:71–74. (In Russ.)
7. Pervushkin SV, Voronin AV, Sokhina AA. *Spirulina* biomass: research and prospects of use. Samara; 2004. (In Russ.)
8. Pervushkin SV, Markova II, Kurkin VA, Zhelonkin NN. The development of the methodics of the quantitative determination of content of β -carotene and phycocyanin in the biomass of *spirulina platensis*. *Fundamentalnye issledovaniia*. 2013;(8–6):1426–1429. (In Russ.)

■ Информация об авторах

Анна Александровна Косенко — аспирант кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.a.kosenko@samsmu.ru

Сергей Васильевич Первушкин — доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

Николай Николаевич Желонкин — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологий. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

Анна Владимировна Куркина — доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической технологии с курсом биотехнологий. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

■ Information about the authors

Anna A. Kosenko — Postgraduate student, Department of Pharmaceutical Technology with the Course of Biotechnologies. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.a.kosenko@samsmu.ru

Sergey V. Pervushkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with the Course in Biotechnologies. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

Nikolai N. Zhelonkin — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Technology with the Course in Biotechnologies. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: texnologi-samgmu@yandex.ru

Anna V. Kurkina — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head of the Department of Pharmaceutical Technologies with the Course of Biotechnologies. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

ГУМИНСОДЕРЖАЩАЯ ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА: ТЕХНОЛОГИЯ, ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

М.Н. Глубокова, Н.П. Аввакумова, А.В. Жданова, М.А. Кривопалова, Е.Е. Катунина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Глубокова М.Н., Аввакумова Н.П., Жданова А.В., Кривопалова М.А., Катунина Е.Е. Гуминсодержащая лекарственная форма: технология, перспективы использования // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 118–126. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.118-126>

Поступила: 21.07.2021

Одобрена: 26.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ Данная статья посвящена разработке технологии и способам оценки качества лекарственной формы — суппозитория, содержащих гуминовые кислоты низкоминерализованных иловых сульфидных грязей. Установлены нормы качества исследуемого лекарственного средства и определена его стабильность в процессе хранения. Количественное определение гуминовых кислот в водных растворах определяли спектрофотометрическим методом.

При технологическом исследовании предлагаемых суппозитория использовали показатели: описание, средняя масса, температура плавления и время полной деформации.

Результаты визуального контроля показали, что внешний вид суппозитория в течение одного года хранения не менялся, однако при оценке внешнего вида суппозитория, хранившихся 1,5 года, было отмечено наличие белого налета, неоднородности окраски. Количество действующего вещества в процессе хранения суппозитория изменялось незначительно и не превышало допустимых норм содержания. Значение температуры плавления не превышало 36 °С, также не наблюдалось ее снижения. Время полной деформации суппозитория не превышало 15 мин и составляло в процессе хранения 5–6 мин. Средняя масса суппозитория в процессе хранения оставалась стабильной. На основании проведенных исследований можно сделать заключение: предлагаемые суппозитории стабильны в течение 12 мес., что позволяет установить предварительный срок хранения суппозитория — 1 год.

Проведенные химико-фармацевтические исследования научно обосновывают целесообразность использования в медицинской практике лекарственных препаратов, полученных на основе гуминовых кислот, обладающих антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, что позволит расширить ассортимент отечественных лекарственных средств с вышеуказанным спектром терапевтического действия.

▪ **Ключевые слова:** гуминовые кислоты; низкоминерализованные иловые сульфидные грязи; суппозитории.

HUMIN-CONTAINING DOSAGE FORM: TECHNOLOGY, APPLICATION PROSPECTS

M.N. Glubokova, N.P. Avvakumova, A.V. Zhdanova, M.A. Krivopalova, E.E. Katunina

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Glubokova MN, Avvakumova NP, Zhdanova AV, Krivopalova MA, Katunina EE. Humin-containing dosage form: Technology, application prospects. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):118–126. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.118-126>

Received: 21.07.2021

Revised: 26.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ This article is devoted to the development of technology and methods for assessing the quality of suppositories containing humic acids of low-mineralized silt sulfide mud. The quality standards of the studied medicinal product were established and its stability during storage was determined. The quantitative determination of humic acids in aqueous solutions was determined by the spectrophotometric method.

When studying the technological indicators of the suppositories, the following indicators were taken into account: description, average weight, melting temperature and time of complete deformation.

The results of visual control showed that the appearance of the suppositories did not change during one year of storage. However, some white plaque and color heterogeneity appeared with the increase of the shelf life up to

1.5 years. The amount of the active substance during the storage of suppositories changed slightly and did not exceed the permissible content standards. The melting point value did not exceed 36 °C, and its decrease was not observed. The time of complete deformation of the suppositories did not exceed 15 minutes and was 5-6 minutes during storage. The average weight of suppositories during storage remained stable. The study allows to conclude that the proposed suppositories are stable for 12 months and the preliminary shelf life of suppositories is 1 year.

The conducted chemical and pharmaceutical studies scientifically substantiate the expediency of using medicines with humic acids that demonstrate antioxidant and anti-inflammatory properties. This will expand the range of domestic medicines with the given spectrum of therapeutic action.

■ **Keywords:** humic acids; low-mineralized silt sulfide mud; suppositories.

Грязелечение — один из старейших и эффективных методов лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата, болезней центральной и периферической нервной систем, заболеваний мужских половых органов, гинекологических патологий, органов дыхания, ЛОР-органов, заболеваний органов пищеварения, кожи и др. [1]. Иловые низкоминерализованные сульфидные грязи, ставшие объектом наших исследований, сформированы в анаэробных условиях и представляют собой сложный многокомпонентный комплекс веществ. Биохимические процессы, свойственные образованию иловых сульфидных грязей, в отличие от почв и торфов, проходят при высоких значениях периода биологической активности, наличии легкоусвояемых микроорганизмами органических веществ, растворимых сульфидов и соответствующей микрофлоры. Подобные условия формируются под воздействием климатических, геологических, биологических, физико-химических и биохимических факторов [1, 2, 8].

Санаторно-курортное лечение нативными грязями сталкивается с рядом таких проблем, как истощение запасов кондиционных пелоидов, их загрязненность продуктами антропогенного происхождения. Отсутствие на сегодняшний день адекватной альтернативы государственной системе обеспечения лечения и реабилитации пациентов с хроническими заболеваниями вне зависимости от материальных возможностей определяет недоступность для большинства санаторно-курортного грязелечения [7, 10]. Вышеназванные проблемы позволят решить использование пелоидов в виде препаратов на основе биологически активных компонентов лечебных грязей, не уступающих в терапевтической эффективности нативной пелоидотерапии. Преимуществом таких препаратов является возможность их применения во внекурортных условиях, что повышает доступность пелоидотерапии для пациентов. Кроме того, использование пелоидопрепаратов снижает расход лечебной грязи, что имеет не только экономическое, но и экологическое значение. Такой подход в использовании

лечебных грязей расширяет возможности классической пелоидотерапии, позволяет уменьшить количество противопоказаний, сделать лечение дозированным и снизить его стоимость, улучшить условия работы медицинского персонала. Пелоидопрепараты легче упаковываются и транспортируются, не требуют специальных сооружений для их хранения [1, 2].

Исследования по созданию новых оригинальных отечественных лекарственных средств приобретают особую важность на фоне сложившейся в последние годы негативной тенденции к увеличению на российском фармацевтическом рынке доли лекарственных средств зарубежных производителей [4, 9].

Значительная часть отрицательных явлений вследствие применения лекарственных веществ связана с неоправданно широким использованием парентеральных путей их введения, при которых практически невозможно избавиться от поступающих в организм гаптенных и даже антигенов. Особенно неблагоприятное влияние оказывают внутриартериальные и внутривенные введения, при которых отсутствует биологическая фильтрация препарата [3, 5, 6].

Введение лекарств *per os* связано с продвижением их через многие органы: прежде чем поступить в системный кровоток, лекарственные вещества должны пройти желудок, тонкий кишечник, печень, в которой они в определенной степени разрушаются и адсорбируются, что может привести к повреждению этого органа. Даже в случае приема натошак лекарства попадают в большой круг кровообращения в среднем не раньше, чем через 30 мин. При пероральном приеме лекарств в виде порошков и особенно таблеток имеется большая вероятность их местного раздражающего действия на слизистую оболочку желудка.

Лекарственные препараты, введенные в прямую кишку, могут быстрее и эффективнее проявить свое действие в результате особо благоприятных условий всасывания. Таким образом, введение лекарственных веществ в виде

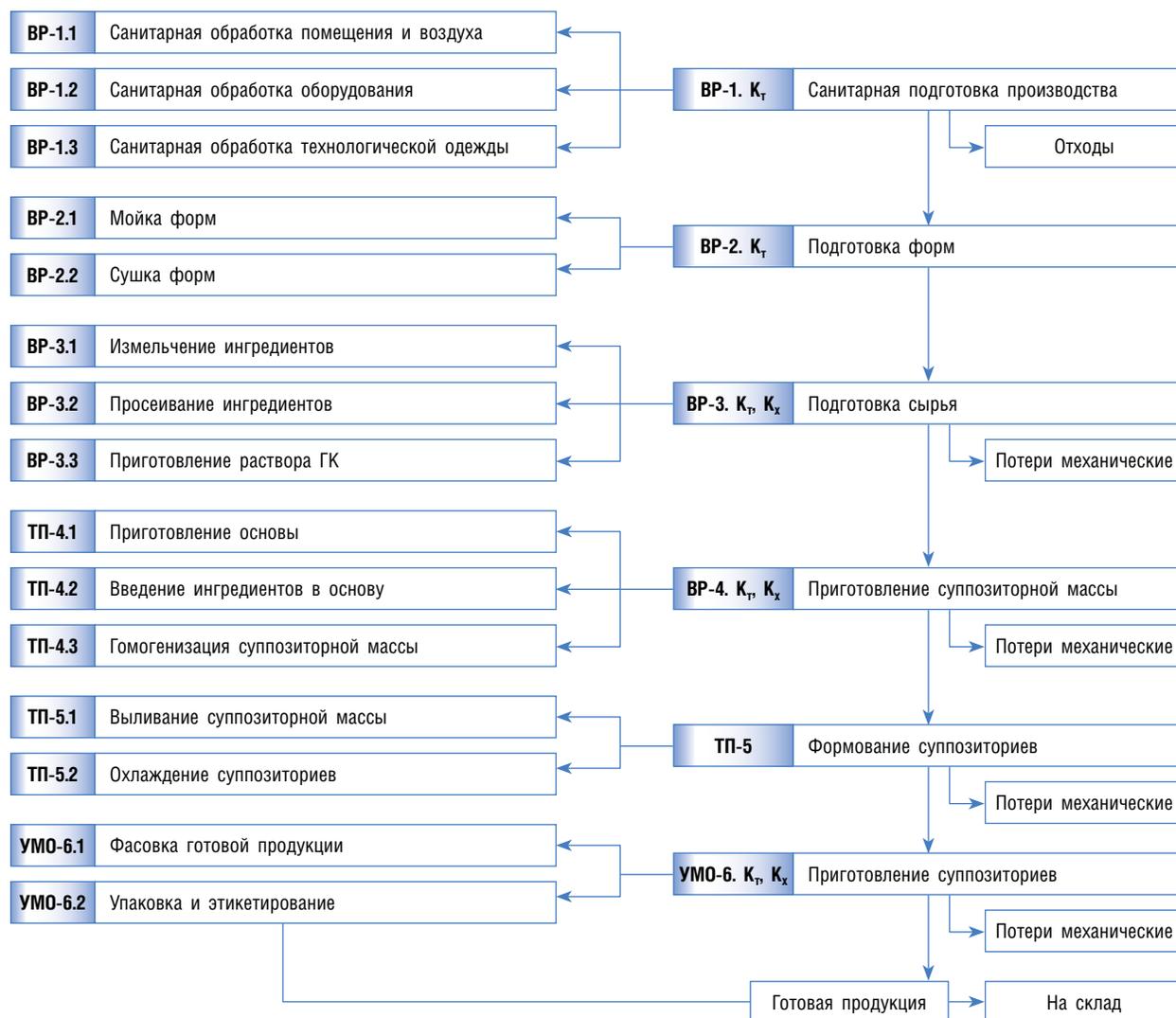


Рис. 1. Технологическая схема производства суппозитриев: ВР — вспомогательные материалы; ТП — технологический процесс; УМО — упаковка, маркировка, отпуск; К_т — контроль технологический; К_х — контроль химический; ГК — гуминовые кислоты

Fig. 1. Technological scheme of suppository manufacturing: ВР — auxiliary works; ТП — technological process; УМО — packaging, labeling, release; К_т — control technological; К_х — chemical control; ГК — humic acids

суппозитриев позволяет уменьшить риск побочных эффектов и гарантировать поступление полной дозы лекарства вне зависимости от приема пищи и сопутствующей терапии.

При разработке технологии суппозитриев с гуминовыми кислотами (ГК) одним из определяющих факторов, оказывающим значительное влияние на действие лекарственных веществ, является суппозиторная основа. Как носитель лекарственных веществ, основа по-разному воздействует на высвобождение ингредиентов. К ней предъявляли такие требования, как: фармакологическая индифферентность, низкая степень раздражающего действия на слизистую прямой кишки, совместимость с лекарственными веществами, способность наиболее быстро и полно

высвобождать лекарственные вещества, а также стабильность при хранении и доступность. Основа должна также обеспечивать хорошие технологические показатели, то есть в расплавленном состоянии иметь определенную вязкость для обеспечения кинетической и седиментационной устойчивости взвешенных в ней частиц, а приготовленная расплавленная суппозиторная масса должна быстро затвердевать; при этом ее объем должен уменьшаться для более легкого отделения от формы.

На первоначальном этапе исследований мы осуществляли отбор суппозиторной основы, для чего была использована липофильная основа — масло какао. Суппозитории готовили методом выливания с содержанием активного вещества (ГК) около 0,1 %. Технологическая

схема производства суппозиториев представлена на рис. 1.

Для изготовления суппозиториев с ГК методом выливания использовали суппозиторную машину, позволяющую получить суппозитории массой 2 г.

0,06 г порошка ГК измельчали, заливали 10 мл 0,05 М натрия гидроксида. Колбу помещали на 4 часа на водяную баню, оставляли на сутки до полного растворения субстанции. Однократно фильтровали через бумажный фильтр, доводили рН до 7,4 на иономере «Анион 4100», разбавляли дистиллированной водой до 10 мл (раствор А).

В ходе эксперимента 60 г основы расплавляли на водяной бане при температуре не выше 36 °С. Часть основы диспергировали раствором А с учетом гомогенизирующей способности по правилу Дерягина и тщательно перемешивали с остальной частью основы при температуре 36 °С. Полученную суппозиторную массу перемешивали до тех пор, пока температура смеси не становилась близка к температуре застывания суппозиториев, после чего быстро разливали в предварительно охлажденные формы. Гнезда формы предварительно смазывали гидрофильной смазкой, чтобы облегчить извлечение готовых суппозиториев. Упаковывали суппозитории в капсулы из воощеной бумаги.

Оценку качества изготовленных суппозиториев осуществляли согласно Государственной фармакопеи Российской Федерации XI издания (ГФ XI) и ОСТ 91500.05.001 от 01.03.2000.

Внешний вид. Суппозитории имеют коричневую окраску, одинаковый размер и торпедообразную форму, гладкую поверхность. На срезе однородные, без механических включений.

Среднюю массу определяли взвешиванием 20 суппозиториев с точностью до 0,01 г. Отклонения в массе суппозиториев на должны превышать $\pm 5\%$, то есть средняя масса должна находиться в пределах от 1,90 до 2,10 г и только два могут иметь отклонения $\pm 7,5\%$ (табл. 1).

Из табл. 1 следует, что полученные отклонения в массе не превышают допустимых норм $\pm 5\%$.

Температуру плавления и время полной деформации суппозиториев определяли в соответствии с требованиями ГФ XI вып. 1, с. 18. Результаты приведены в табл. 2.

Из данных, приведенных в таблице, следует, что температура плавления суппозиториев находится в пределах 34,7–36,0 °С, что соответствует требованиям ГФ XI.

В ходе определения времени полной деформации установлено, что оно находится

Таблица 1 / Table 1

Результаты определения отклонения средней массы суппозиториев с гуминовыми кислотами

Deviation of the average weight of suppositories with humic acids: results of determination

| Средняя масса суппозитория, г | Максимальное отклонение в массе, % | |
|-------------------------------|------------------------------------|------|
| 1,91 | +1,7 | -2,7 |
| 2,06 | +2,0 | -3,3 |
| 1,97 | +1,7 | -1,0 |
| 1,95 | +1,0 | -2,9 |
| 2,07 | +1,3 | -2,5 |
| 2,01 | +2,3 | -2,5 |

Таблица 2 / Table 2

Результаты испытания суппозиториев «Температура плавления» и «Время полной деформации»

“Melting point” and “Time of complete deformation” for suppositories: test results

| Температура плавления, °С | Время полной деформации, мин |
|---|--|
| 35,1 | 5,5 |
| 35,7 | 6 |
| 36,0 | 6,1 |
| 35,7 | 6 |
| 35,5 | 5,9 |
| 35,9 | 5,8 |
| $X \pm \Delta X = 35,6 \pm 0,3$ $\epsilon, \% = 0,9$ | $X \pm \Delta X = 5,9 \pm 0,2$ $\epsilon, \% = 3,8$ |

в пределах 5,5–6,1 мин, максимально допустимое время по ГФ — 15 мин.

При исследовании технологических показателей предлагаемых суппозиториев было установлено, что они соответствуют требованиям нормативной документации по всем показателям (описание, средняя масса, температура плавления и время полной деформации).

Для разработки методов качественного анализа гуминовых кислот в лекарственной форме готовили две серии суппозиториев, одна из которых — «плацебо», а другая содержала ГК.

1 суппозиторий из каждой серии помещали в коническую колбу на 25 мл, прибавляли 5 мл 0,05 М раствора натрия гидроксида и нагревали на водяной бане до расплавления суппозиторной массы, закрывали пробкой, перемешивали и оставляли на 10 мин при комнатной температуре. Колбу с содержимым охлаждали, помещая в морозильную камеру на 10 мин, после застывания массы встряхивали, и извлечение фильтровали в колбу на 15 мл через бумажный фильтр, предварительно смоченный водой. Полученный

раствор выпаривали досуха на водяной бане, сухой осадок растворяли в 2 мл растворителя и измеряли оптическую плотность этих растворов на спектрофотометре при длине волны 350 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряли оптическую плотность 0,001 % раствора стандартного образца (СО) ГК.

Таким образом, для извлечения № 1 наблюдаются характерные максимумы поглощения 350 и 390 нм, что соответствует максимумам поглощения в СО ГК. В извлечении «плацебо» подобных максимумов полос поглощения нет. Вспомогательные вещества (суппозиторная основа) не мешают качественному определению.

Для разработки методов количественного анализа ГК в лекарственной форме готовили две серии суппозитория, одна из которых содержала ГК пелоидов, а вторая — «плацебо».

Спектрофотометрическое определение гуминовых кислот в суппозиториях

Ранее нами была показана возможность прямого спектрофотометрического определения ГК пелоидов в субстанции.

Проверку правильности методики проводили на трехуровневом эксперименте по 15 последовательным определениям точно известной концентрации ГК в суппозиториях 0,001, 0,002, 0,003 г соответственно.

Методика. 2,0 г (точная навеска) каждой модельной серии суппозиторной массы помещали в коническую колбу на 25 мл, прибавляли 5 мл 0,05 М раствора натрия гидроксида и нагревали на водяной бане до расплавления суппозиторной массы, закрывали пробкой, перемешивали и оставляли на 10 мин при комнатной температуре. Колбу с содержимым охлаждали, помещая в морозильную камеру на 10 мин, после застывания массы встряхивали и извлечение фильтровали в колбу на 15 мл через бумажный фильтр, предварительно смоченный водой. Полученный раствор выпаривали досуха на водяной бане, полученный сухой осадок растворяли в 2 мл растворителя и измеряли оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре при длине волны 350 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО ГК 0,001 % (табл. 3).

Содержание ГК в граммах (X) в одном суппозитории вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot a_{ст} \cdot P}{A_{ст} \cdot a_x \cdot 100},$$

где A_x , $A_{ст}$ — оптическая плотность анализируемого раствора и раствора СО ГК соответственно; a_x , $a_{ст}$ — массы модельной смеси и СО ГК соответственно, г; P — масса суппозитория.

Таблица 3 / Table 3

Определение правильности методики определения гуминовых кислот пелоидов ($A_{ст} = 0,448$, $a_{ст} = 0,1013$)
The method for revealing humic acids of peloids ($A_{st} = 0.448$, $a_{st} = 0.1013$): validity determination

| Уровень, % | Взято гуминовых кислот, г на 1 суппозиторий | Оптическая плотность, А | Найдено гуминовых кислот | | Метрологические характеристики |
|------------|---|-------------------------|--------------------------|-------|--|
| | | | г | % | |
| 50 | 0,001 | 0,400 | 0,00090 | 90,3 | $X \pm \Delta X =$ $= 98,9 \pm 3,387$ $S = 1,80$ $\varepsilon, \% = 3,91$ |
| 50 | 0,001 | 0,404 | 0,00091 | 90,9 | |
| 50 | 0,001 | 0,396 | 0,00090 | 89,5 | |
| 50 | 0,001 | 0,400 | 0,00090 | 90,2 | |
| 50 | 0,001 | 0,424 | 0,00096 | 95,8 | |
| 100 | 0,002 | 0,848 | 0,00191 | 95,7 | |
| 100 | 0,002 | 0,938 | 0,00212 | 105,8 | |
| 100 | 0,002 | 0,944 | 0,00213 | 106,3 | |
| 100 | 0,002 | 0,850 | 0,00192 | 95,9 | |
| 100 | 0,002 | 0,850 | 0,00192 | 95,9 | |
| 150 | 0,003 | 1,420 | 0,00320 | 106,7 | |
| 150 | 0,003 | 1,428 | 0,00322 | 107,3 | |
| 150 | 0,003 | 1,404 | 0,00317 | 105,5 | |
| 150 | 0,003 | 1,374 | 0,00310 | 103,3 | |
| 150 | 0,003 | 1,408 | 0,00317 | 105,8 | |

Результаты определения субстанции ГК пеллоидов позволяют говорить о том, что предлагаемая нами методика не отягощена систематической ошибкой, так как соблюдается неравенство $t_{\text{выч}} < t_{\text{табл}}(P, f)$ (табл. 3). Она позволяет определить содержание ГК в суппозиториях с относительной погрешностью определения $\pm 3,91\%$.

По усредненным полученным данным строили зависимость оптической плотности от концентрации ГК в растворе (рис. 2).

Следующим этапом в наших исследованиях было установление воспроизводимости: согласно материалам ИСН — это характеристика случайного рассеяния.

Методика. 1 суппозиторий из каждой серии помещали в коническую колбу на 25 мл, прибавляли 5 мл 0,05 М раствора натрия гидроксида и нагревали на водяной бане до расплавления суппозиторной массы, закрывали пробкой, перемешивали и оставляли на 10 мин при комнатной температуре. Колбу с содержимым охлаждали, помещая в морозильную камеру на 10 мин, после застывания массы встряхивали, и извлечение фильтровали в колбу на 15 мл через бумажный фильтр, предварительно смоченный водой. Полученный раствор выпаривали досуха на водяной бане, полученный сухой осадок растворяли в 2 мл растворителя и измеряли оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре при длине волны 350 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Параллельно измеряли оптическую плотность раствора СО ГК 0,001 %.

Содержание вычисляли по формуле, указанной выше.

Результаты шести параллельных определений представлены в табл. 4.

Как следует из представленных результатов, относительная погрешность (ϵ) не превышает 3,5 %.

Таблица 4 / Table 4

Результаты определения относительной погрешности методики количественного определения содержания гуминовых кислот ($A_{\text{ст}} = 0,448$, $a_{\text{ст}} = 0,1013$)

Relative error of the method of quantitative determination of GC ($A_{\text{st}} = 0.448$, $a_{\text{st}} = 0.1013$): results of determination

| Масса суппозитория, г | Оптическая плотность, А | Найдено гуминовых кислот, г | Метрологические характеристики |
|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|---|
| 1,9198 | 0,910 | 0,00196 | $X \pm \Delta X = 0,0020 \pm 0,00007$ $S_{\text{cp}} = 0,000029$ $\epsilon = 3,5\%$ |
| 2,0602 | 0,906 | 0,00190 | |
| 1,9789 | 0,838 | 0,00192 | |
| 1,9932 | 0,884 | 0,00203 | |
| 2,0789 | 0,974 | 0,00209 | |
| 2,0103 | 0,806 | 0,00200 | |

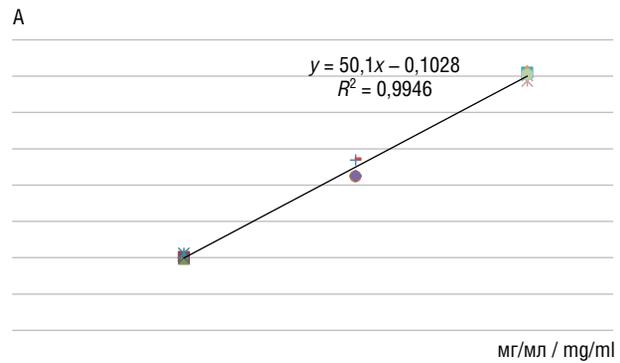


Рис. 2. Зависимость оптической плотности от концентрации гуминовых кислот в растворе

Fig. 2. Dependence of the optical density on the concentration of HA in the solution

Таким образом, в ходе проведенных исследований показана возможность применения прямого спектрофотометрического определения содержания ГК, предлагаемая методика валидирована по таким основным критериям, как правильность, линейность, сходимость.

Содержание ГК в каждом суппозитории удовлетворяет требованиям ГФ XI вып. 2 с. 151. (отклонение должно быть не более 15 %).

Следующий этап — изучение стабильности суппозитория с ГК в процессе хранения. Стабильность — неотъемлемое требование, предъявляемое к лекарственным препаратам с точки зрения сохранения их качества. Поэтому проблема исследования стабильности и создания стабильных лекарственных препаратов является одной из актуальных проблем фармации.

Качество полученных суппозитория в процессе длительного хранения оценивали с помощью предлагаемых выше химических и физико-химических методов исследования. Для этого 5 серий суппозитория были заложены на хранение в естественных условиях

Таблица 5 / Table 5

Результаты анализа суппозитория с гуминовыми кислотами, подвергавшихся хранению в естественных условиях
 Analysis of the suppositories with humic acids stored *in vivo*: test findings

| Показатели качества по проекту ФСП | Требования проекта ФСП | Срок хранения | | | | |
|---|---|---------------|---------|---------|---------|-----------|
| | | 1 нед. | 1 мес. | 6 мес. | 1 год | 1,5 года |
| Описание | Суппозитории коричневого цвета, торпедообразной формы, без видимых вкраплений на продольном срезе | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Не соотв. |
| Температура плавления | ГФ XI, вып. 2, с. 151 | 35,7 | 35,5 | 35,6 | 36,1 | 37,9 |
| Время полной деформации | ГФ XI, вып. 2, с. 151 | 6,9 | 6,8 | 7,0 | 6,9 | 10,6 |
| Средняя масса суппозитория | ГФ XI, вып. 2, с. 151 | 1,95 | 2,02 | 1,96 | 2,0 | 2,0 |
| Подлинность Гуминовые кислоты | УФ-спектрофотометрия (наличие максимумов при 350 и 390 нм) | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| | ИК-спектроскопия | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. | Соотв. |
| Количественное определение 1. Гуминовые кислоты (спектрофотометрия) 2. Жидкостная хроматография с амперометрическим детектором | От 0,00195 до 0,0021 г | 0,00197 | 0,00199 | 0,00197 | 0,00198 | 0,00198 |
| | | 0,00201 | 0,00200 | 0,00198 | 0,00199 | 0,00196 |

Примечание. ФСП — фармакопейная статья предприятия.

Note. ФСП — manufacture's pharmacopoeial monograph.

в предлагаемой упаковке, после чего проводили долгосрочные наблюдения за этими сериями.

Критериями качества служили показатели, предложенные в проекте «Фармакопейная статья предприятия»: внешний вид (цвет, однородность, твердость), температура плавления, время полной деформации, средняя масса суппозитория, подлинность, количественное содержание действующего вещества.

Результаты контроля предлагаемых суппозитория приведены в табл. 5.

Результаты визуального контроля показали, что внешний вид суппозитория в течение одного года хранения не менялся. При оценке внешнего вида суппозитория, хранившихся 1,5 года, было отмечено наличие белого налета и неоднородности окраски. Данные табл. 5 свидетельствуют о том, что количество действующего вещества в процессе хранения суппозитория изменялось незначительно и не превышало допустимых норм содержания. Значение температуры плавления не превышало 36 °С; также не наблюдалось ее снижения. Время полной деформации суппозитория не превышало 15 мин и составляло в процессе хранения 5–6 мин.

Средняя масса суппозитория в процессе хранения оставалась стабильной. На основа-

нии проведенных исследований можно сделать заключение: предлагаемые суппозитория стабильны в течение 12 мес., что позволяет установить предварительный срок хранения суппозитория — 1 год.

Проведенные экспериментальные исследования по разработке оптимальной технологии суппозитория с ГК пелоидов показали, что наиболее приемлемой основой является масло какао. Критерием оценки качества служили такие показатели, как внешний вид (цвет, однородность, твердость), температура плавления, время полной деформации, средняя масса суппозитория, подлинность, количественное содержание действующего вещества. Разработана технологическая схема производства суппозитория с ГК.

Для определения качества полученных суппозитория с ГК рекомендуется определять количественное содержание ГК и суммарное содержание антиоксидантов спектрофотометрическим и амперометрическим методами. Установлено, что ошибка определения не превышает 3,5 %. Проведены исследования по изучению стабильности суппозитория с гуминовыми кислотами и установлено, что суппозитория с ГК стабильны в течение 1 года.

Внедрение полученных результатов в медицинскую и фармацевтическую практику позволит создать новый для России класс лекарственных средств на основе экологически чистых природных веществ с доступной сырьевой базой.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Аввакумова Н.П. Биохимические аспекты терапевтической эффективности гумусовых кислот лечебных грязей. Самара, 2002.
2. Аввакумова Н.П., Герчиков А.Я., Хайруллина В.Р., Жданова А.В. Антиоксидантные свойства гуминовых веществ пелоидов // Химико-фармацевтический журнал. 2011. Т. 45, № 3. С. 50–51.
3. Зыкова М.В., Белоусов М.В., Гурьев А.М. и др. Стандартизация гуминовых кислот низинного древесно-травяного вида торфа Томской области // Химико-фармацевтический журнал. 2013. Т. 47, № 12. С. 53–56.
4. Перминова И.В., Жилин Д.М. Гуминовые вещества в контексте зеленой химии // Зеленая химия в России. М., 2004. С. 146–162.
5. Савченко И.А., Корнеева И.Н., Плаксин Г.В. и др. Новый подход к решению проблемы стандартизации гуминовых кислот // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 3. С. 360.
6. Holland A., Duivenvoorden L.J., Kinnear S.H. Humic substances of varying types increase survivorship of the freshwater shrimp *Caridina* sp. D to acid mine drainage // *Ecotoxicology*. 2014. Vol. 23, No. 5. P. 939–945. DOI: 10.1007/s10646-014-1237-3
7. Keny R.V., Lourenco C.F. Formulation and evaluation of thermo-reversible in situ gelling and mucoadhesive Diltiazem hydrochloride liquid suppository // *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2010. Vol. 1, No. 1.
8. Phaechamud T., Muennoom W. Effect of xanthan gum and HPMC on drug liberation from hollow-type fast and sustained release suppositories // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015. No. 4. P. 1034–1044.

■ Информация об авторах

Мария Николаевна Глубокова — кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: m.n.glubokova@samsmu.ru

Надежда Петровна Аввакумова — доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: n.p.avvakumova@samsmu.ru

9. Yousfan J. Preparation and evaluation of Levodropropizine suppositories // *J. Chem. Pharm. Res.* 2015. Vol. 7, No. 7. P. 274–282.
10. Van Rensburg C.E. The antiinflammatory properties of humic substances: a mini review // *Phytother. Res.* 2015. Vol. 29, No. 6. P. 791–795. DOI: 10.1002/ptr.5319

References

1. Avvakumova NP. Biohimicheskie aspekty terapevticheskoj jeffektivnosti gumusovyh kislot lechebnyh grjazej. Samara; 2002. (In Russ.)
2. Avvakumova NP, Gerchikov AYa, Khajrullina VR, Zhdanova AV. Antioxidant properties of humic substances isolated from peloids. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2011;45(3):50–51. (In Russ.)
3. Zykova MV, Belousov MV, Gur'ev AM, et al. Standardization of humic acids of lowland wood-grass peat from Tomsk Region. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2013;47(12):53–56. (In Russ.)
4. Perminova IV, Zhilin DM. Guminovye veshhestva v kontekste zelenoj himii. *Zelenaja himija v Rossii*. Moscow; 2004. P. 146–162. (In Russ.)
5. Savchenko IA, Korneeva IN, Plaksin GV, et al. A new approach to standardization of humic acids. *Modern problems of science and education*. 2013;(3):360. (In Russ.)
6. Holland A, Duivenvoorden LJ, Kinnear SH. Humic substances of varying types increase survivorship of the freshwater shrimp *Caridina* sp. D to acid mine drainage. *Ecotoxicology*. 2014;23(5):939–945. DOI: 10.1007/s10646-014-1237-3
7. Keny RV, Lourenco CF. Formulation and evaluation of thermo-reversible in situ gelling and mucoadhesive Diltiazem hydrochloride liquid suppository. *Int J Pharm Bio Sci*. 2010;1(1).
8. Phaechamud T, Muennoom W. Effect of xanthan gum and HPMC on drug liberation from hollow-type fast and sustained release suppositories. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2015;(4):1034–1044.
9. Yousfan J. Preparation and evaluation of Levodropropizine suppositories. *J Chem Pharm Res*. 2015;7(7):274–282.
10. Van Rensburg CE. The antiinflammatory properties of humic substances: a mini review. *Phytother Res*. 2015;29(6):791–795. DOI: 10.1002/ptr.5319

■ Information about the authors

Maria N. Glubokova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: m.n.glubokova@samsmu.ru

Nadezhda P. Avvakumova — Doctor of Biological Sciences, Head of Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: n.p.avvakumova@samsmu.ru

■ Информация об авторах

Алина Валитовна Жданова — кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.v.zhdanova@samsmu.ru

Мария Ариевна Кривопалова — кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: m.a.krivopalova@samsmu.ru

Елена Евгеньевна Катунина — кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры медицинской химии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: e.e.katunina@samsmu.ru

■ Information about the authors

Alina V. Zhdanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.v.zhdanova@samsmu.ru

Maria A. Krivopalova — Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: m.a.krivopalova@samsmu.ru

Elena E. Katunina — Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Medical Chemistry Department. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: e.e.katunina@samsmu.ru

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ ТИМЬЯНА МАРШАЛЛА НА АНТИОКСИДАНТНЫЕ ПРОЦЕССЫ В ОПЫТЕ *IN VIVO* И *IN VITRO*

А.С. Шереметьева, Н.А. Дурнова, Ю.Г. Чернышева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Саратов, Россия

Как цитировать: Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Чернышева Ю.Г. Влияние экстрактов тимьяна Маршалла на антиоксидантные процессы в опыте *in vivo* и *in vitro* // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 127–131. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.127-131>

Поступила: 24.03.2021

Одобрена: 19.05.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** В настоящее время накоплены фундаментальные и экспериментальные данные, подтверждающие роль свободных радикалов в физиологических и патологических процессах. В литературе описаны противоречивые сведения о влиянии антиоксидантов на организм: они способны защищать не только нормальные клетки от альтерирующего воздействия свободных радикалов, но и опухолевые, тем самым подерживая их выживаемость и рост, поэтому актуальным является изучение влияния извлечений тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации *in vivo* на фоне опухолевого процесса.

Цель — изучить влияние водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) на уровень промежуточных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени РС-1 и сравнить с антиоксидантной активностью *in vivo*.

Материалы и методы. Объект исследования — высушенная трава тимьяна Маршалла. В эксперименте использованы водные и спиртовые извлечения. Эксперимент проводили на 15 самцах белых беспородных крыс на фоне перевитой опухоли: первая группа — интактная, вторая — получала водное извлечение тимьяна Маршалла, третья — получала спиртовое извлечение тимьяна Маршалла. Активность процессов липопероксидации оценивали по содержанию в плазме крови экспериментальных крыс промежуточных продуктов перекисного окисления липидов — малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы, общепринятыми спектрофотометрическими методами. Определение антиоксидантной активности настоя и спиртового извлечения в эксперименте *in vitro* проводили титриметрическим методом.

Результаты. В группе контрольных животных и группах, получавших внутрибрюшинно водные и спиртовые извлечения тимьяна Маршалла, не наблюдали усиления образования промежуточных продуктов липопероксидации. Содержание малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы в плазме крови опытных крыс достоверно не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных. В эксперименте *in vitro* водные и спиртовые извлечения из сырья тимьяна Маршалла показали антиоксидантную активность.

Заключение. Впервые проведен эксперимент по изучению влияния водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации у беспородных белых крыс на фоне перевитого альвеолярного рака печени РС-1. Активность образования промежуточных продуктов перекисного окисления липидов не изменялась, так как их содержание в плазме крови опытных животных не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных. *In vitro* настоей и спиртовое извлечение продемонстрировали антиоксидантную активность.

▪ **Ключевые слова:** тимьян Маршалла; *Thymus marchallianus* Willd.; трава; настоей; спиртовое извлечение; липопероксидация.

EFFECT OF *THYMUS MARSCHALLIANUS* EXTRACT ON LIPID PEROXIDATION PROCESSES *IN VIVO* AND *IN VITRO* EXPERIMENTS

A.S. Sheremetyeva, N.A. Durnova, Yu.G. Chernysheva

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

To cite this article: Sheremetyeva AS, Durnova NA, Chernysheva YuG. Effect of *Thymus marschallianus* extract on lipid peroxidation processes *in vivo* and *in vitro* experiments. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):127–131. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.127-131>

Received: 24.03.2021

Revised: 19.05.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** Currently, fundamental and experimental data confirming the role of free radicals in physiological and pathological processes have been accumulated. The literature describes conflicting information about the effect of antioxidants on the organism: they are able to protect not only normal cells from the alterative effect of free radicals, but also tumor cells, thereby supporting the survival and growth of the latter. Therefore, the study of the effect of *Thymus marchallianus* extract on the processes of lipoperoxidation in vivo against the background of the tumor process is relevant.

AIM: To study the effect of *Thymus marchallianus* extract on the quantity of lipid peroxidation intermediates in the blood plasma of mongrel white rats with liver cancer PC-1 and compare with *in vivo* antioxidant activity.

MATERIALS AND METHODS: The object of research was the dried *Thymus marchallianus* grass. Water and alcohol extracts were used in the experiment. Fifteen male white mongrel rats with a tumor were included in the experiment: the first group was intact, the second group received the water extract of *Thymus marchallianus*, and the third group received the alcohol extract of *Thymus marchallianus*. The activity of lipoperoxidation processes was evaluated, the content of intermediate lipid peroxidation intermediates – malon dialdehyde, lipid hydroperoxides and medium-mass molecules in the blood plasma of experimental rats were estimated by means of conventional spectrophotometric methods. Determination of the antioxidant activity of the infusion and alcohol extraction in the *in vitro* experiment was carried out by the titrimetric method.

RESULTS: In the control groups and the group of animals that received intraperitoneal water and alcohol extracts of *Thymus marchallianus*, increase in the intermediate products of lipid peroxidation was not revealed. The amount of malon dialdehyde, lipid hydroperoxides and medium-mass molecules in the blood plasma of experimental rats did not differ significantly from the level of similar indicators of intact animals. In the *in vitro* experiment, water and alcohol extracts from raw *Thymus marchallianus* showed antioxidant activity.

CONCLUSIONS: For the first time, the experiment was conducted to study the effect of water and water-alcohol extracts of *Thymus marchallianus* on lipoperoxidation processes in mongrel white rats with alveolar liver cancer PC-1. The activity of formation of intermediate products of lipid peroxidation did not change, since their content in the blood plasma of experimental animals did not differ from the level of similar indicators of intact animals. *In vitro* the infusion and alcohol extract demonstrated antioxidant activity.

▪ **Keywords:** *Thymus marchallianus*; herb; extract; infusion; alcoholic extract; lipid peroxidation product.

Обоснование

Среди растений рода *Thymus* L. официальными являются два вида: тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.) и тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.), сырье которых рекомендовано к применению в качестве отхаркивающего средства. Интерес представляет изучение близкородственных видов с целью выявления новых аспектов их биологической активности. С этой точки зрения перспективным источником лекарственного растительного сырья является тимьян Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.). Ранее уже были установлены некоторые аспекты биологической активности экстрактов этого растения: антимикробная [10, 12, 13], отхаркивающая, противовоспалительная [10], а также проведены определения качественного и количественного состава эфирных масел [2, 11, 13]. Кроме того, водные и спиртовые извлечения травы тимьяна Маршалла показали антиоксидантную активность в эксперименте *in vitro* [10].

В настоящее время накоплены фундаментальные и экспериментальные данные, подтверждающие роль свободных радикалов в физиологических и патологических процессах. В литературе описаны противоречивые сведения о влиянии антиоксидантов на организм: они способны защищать не только нор-

мальные клетки от альтерирующего воздействия свободных радикалов, но и опухолевые, тем самым поддерживая их выживаемость и рост [3, 5, 7], поэтому актуально изучение влияния экстракта тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации *in vivo* на фоне опухолевого процесса.

Цель исследования — изучить влияние водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на уровень промежуточных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени PC-1 и сравнить с антиоксидантной активностью *in vivo*.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использована высушенная трава тимьяна Маршалла, которая собрана в окрестностях Саратова в июне-июле 2018 г. Настой готовили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XIV издания (ОФС 1.4.1.0018.15 «Настои и отвары»). Спиртовое извлечение получено по ранее применяемой методике [9], которая, в частности, позволила получить экстракты, показавшие антиоксидантную активность [1, 6].

Эксперимент *in vivo* проводили на 15 самцах белых беспородных крыс массой $228,0 \pm 27,0$ г,

которым имплантировали подкожно опухольную взвесь клеток альвеолярного рака печени — РС-1. Животные были разделены на 3 группы по 5 крыс: первая группа — интактная, вторая — получала водное извлечение тимьяна Маршалла, третья — спиртовое извлечение тимьяна Маршалла. Эксперимент был начат при достижении опухоли 1 см³.

Экстракты вводили внутривенно один раз в день в течение 14 сут. Животных выводили из эксперимента путем декапитации и забирали кровь для дальнейших исследований. Активность процессов липопероксидации оценивали по содержанию в плазме крови экспериментальных крыс промежуточных продуктов перекисного окисления липидов — малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы, общепринятыми спектрофотометрическими методами с использованием спектрофотометра Shimadzu CF-UV 1800 [4]. Статистическую обработку проводили при помощи пакета программного обеспечения Statistica 10.0.

Работу с лабораторными животными осуществляли согласно протоколу исследований, не противоречащих Женевской конвенции 1985 г. о «Международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных». Тема и описание экспериментов одобрены этической комиссией ФГБОУ ВО

«Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 4 от 03.05.2020).

Определение антиоксидантной активности настоя и спиртового извлечения в эксперименте *in vitro* проводили титриметрическим методом, основанным на взаимодействии калия перманганата с веществами восстанавливающего характера, содержащимися в растительном сырье тимьяна Маршалла. Расчет показателя антиоксидантной активности, которому соответствует концентрация биологически активных веществ восстанавливающего характера, осуществляли в пересчете на цинарозид, рутин и кверцетин [8]. Титрование проведено в трехкратной повторности.

Результаты и обсуждение

В ходе эксперимента получены следующие результаты: в условиях *in vivo* в группе контрольных животных и группах, получавших внутривенно водные и спиртовые извлечения тимьяна Маршалла, не наблюдали усиления образования промежуточных продуктов липопероксидации. Содержание малонового диальдегида, гидроперекисей липидов и молекул средней массы в плазме крови опытных крыс достоверно не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Уровень промежуточных продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени РС-1 при введении экстрактов тимьяна Маршалла

The level of intermediate products of lipid peroxidation in the blood serum of mongrel white rats against the background of transplanted liver cancer RS-1 with the introduction of *Thymus marchallianus* extracts

| Группа экспериментальных животных | Показатель | | |
|---|--------------------------------|------------------------------|----------------------------------|
| | малоновый диальдегид, мкмоль/л | гидроперекись липидов, о. е. | молекулы средней массы, усл. ед. |
| Интактные крысы | 9,28 ± 1,82 | 0,16 | 0,31 ± 0,03 |
| Крысы, получавшие водное извлечение тимьяна Маршалла | 9,28 ± 1,30 | 0,32 | 0,16 ± 0,03 |
| Крысы, получавшие спиртовое извлечение тимьяна Маршалла | 10,00 ± 1,23 | 0,23 | 0,19 ± 0,06 |

Примечание. Различия между экспериментальными группами недостоверны ($p > 0,05$).
Note. The difference between the experimental group is unreliable ($p > 0,05$).

Таблица 2 / Table 2

Антиоксидантная активность экстрактов тимьяна Маршалла
Antioxidant activity of *Thymus marchallianus* extracts

| Извлечения тимьяна Маршалла | Антиоксидантная активность, мг/г | | |
|-----------------------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------|
| | в пересчете на кверцетин | в пересчете на цинарозид | в пересчете на рутин |
| Водное извлечение | 17,46 ± 0,69 | 29,33 ± 1,15 | 29,33 ± 1,15 |
| Спиртовое извлечение | 233,33 ± 28,87 | 392,00 ± 48,50 | 392,00 ± 48,50 |

В эксперименте *in vitro*, основанном на окислении антиоксидантов перманганатом калия в кислой среде [8], установлено, что водные и спиртовые извлечения из сырья тимьяна Маршалла обладают антиоксидантной активностью. Спиртовые извлечения, приготовленные по запатентованной методике [9], показали более выраженную антиоксидантную активность, чем настои (табл. 2).

Данные эксперимента демонстрируют неоднозначность, так как результаты в проведенных экспериментах *in vivo* и *in vitro* не согласуются. Ранее в эксперименте *in vitro* [10] также была показана антиоксидантная активность водных и спиртовых извлечений травы тимьяна Маршалла. Процессы *in vivo* протекают под влиянием многообразных факторов на живой организм. Во-первых, в организме имеются собственные системы антиоксидантной защиты (низкомолекулярные антиоксиданты, антиоксидантные ферменты). Во-вторых, активность перекисного окисления липидов у некоторых видов опухолевых клеток может быть снижена за счет их собственной специфической антиоксидантной защиты [5, 7]. В данном эксперименте введение экстрактов проводилось на фоне развития перевитой опухоли, что могло повлиять на результаты.

Извлечения из лекарственного растительного сырья представляют собой сложный комплекс биологически активных веществ (основными химическими составляющими растений этого рода являются эфирное масло, фенольные соединения, тритерпеновые соединения, полисахаридные комплексы, минеральные элементы, аминокислоты, карбоновые кислоты [10]), что затрудняет возможность предположения биологически активного компонента, за счет которого показана активность *in vitro*.

Таким образом, проведенный нами эксперимент стал начальным этапом изучения влияния экстрактов тимьяна Маршалла на процессы перекисного окисления *in vivo*. В ходе дальнейшего исследования необходимо применение более широкого спектра показателей активности процессов липопероксидации, что позволит сделать вывод не только о наличии антиоксидантной активности экстракта, но и предположить возможные механизмы его влияния.

Заключение

Впервые проведен эксперимент по изучению влияния водных и спиртовых извлечений тимьяна Маршалла на процессы липопероксидации у беспородных белых крыс на фоне перевитого рака печени РС-1. Содержание малонового диальдегида, гидроперексидей липидов и молекул

средней массы в плазме крови опытных животных достоверно не отличалось от уровня аналогичных показателей интактных животных. В эксперименте *in vitro* водные и спиртовые извлечения из сырья тимьяна Маршалла показали антиоксидантную активность.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Дурнова Н.А., Афанасьева Г.А., Курчатова М.Н. и др. Содержание маркеров оксидативного стресса в плазме крови под действием экстрактов аврана лекарственного, бессмертника песчаного, антоциановой формы кукурузы обыкновенной в условиях индуцированного окислительного стресса // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015. № 78. С. 36–40.
2. Дурнова Н.А., Романтеева Ю.В., Ковтун А.Н. Химический состав эфирного масла *Thymus marshallianus* Willd. и *Thymus pallasianus* H. Br., произрастающих на территории Саратовской области // Химия растительного сырья. 2014. № 2. С. 115–119.
3. Курчатова М.Н., Шереметьева А.С., Чемарев А.П. Противоопухолевая активность природных антиоксидантов: уровень изученности, перспективы // Материалы международной научно-практической конференции «Инновационное развитие: потенциал науки и современного образования»; Январь, 2018. Пенза, 2018. С. 51–54.
4. Медицинские лабораторные технологии: справочник / под ред. А.И. Карпищенко. СПб., 2002.
5. Никифорова Н.В., Берман А.Е. Антиоксиданты в злокачественных опухолях человека и экспериментальных животных // Биомедицинская химия. 2003. Т. 49, № 3. С. 250–262.
6. Пластун В.О., Комарова Е.Э., Дурнова Н.А. и др. Изменения активности процессов липопероксидации под влиянием экстракта очитка большого (*Sedum maximum* (L.) Hoffm.) // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. 2015. № 2. С. 178–183.
7. Пузаков К.К., Дурнова Н.А., Рыженкова И.Г. Современные представления о влиянии экзогенных антиоксидантов на рост злокачественных опухолей // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2019. Т. 17, № 2. С. 29–33.
8. Патент RU 2170930 C1/20.07.2001. Максимова Т.В., Никулина И.Н., Пахомов В.П. и др. Способ определения антиокислительной активности.
9. Патент RU 2482863 C1/27.05.2013. Бучарская А.Б., Дурнова Н.А., Маслякова Г.Н. и др. Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью.
10. Старчак Ю.А. Фармакогностическое изучение растений рода тимьян (*Thymus* L.) как перспективного источника получения фитопрепаратов: дис. ... докт. фарм. наук. Самара, 2016. Режим доступа: <http://www.samsmu.ru/files/referats/2016/starchak/dissertation.pdf>. Дата обращения: 26.03.2020.

11. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Березуцкий М.А. Содержание эфирных масел в траве разных видов рода тимьян (*Thymus* L.) // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. 2017. Т. 15, № 2. С. 15–19. DOI: 10.18500/1682-1637-2017-15-2-15-19
12. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Райкова С.В. Исследование антимикробной активности водно-спиртового экстракта тимьяна Маршалла // VII научная конференция с международным участием «Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения»; Декабрь 19, 2019; Москва, 2019. С. 509–514.
13. Niculae M., Hanganu D., Oniga I. et al. Phytochemical profile and antimicrobial potential of extracts obtained from *Thymus marchallianus* Willd // *Molecules*. 2019. Vol. 24, No. 17. P. 3101.
5. Nikiforova NV, Berman AE. Antioksidanty v zlo-kachestvennykh opukholyakh cheloveka i eksperimental'nykh zhivotnykh. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2003;49(30):250–262. (In Russ.)
6. Plastun VO, Komarova EE, Durnova N A, et al. Izmeneniya aktivnosti protsessov lipoperoksidatsii pod vliyaniem ekstrakta ochitka bol'shogo (*Sedum maximum* (L.) Hoffm.). *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*. 2015;(2):178–183. (In Russ.)
7. Puzakov KK, Durnova NA, Ryzhenkova IG. Sovremennye predstavleniya o vliyanii ekzogennykh antioksidantov na rost zlokachestvennykh opukholey. *Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii*. 2019;17(2):29–33. (In Russ.)
8. Patent RU2170930C1/20.07.2001. Maksimova TV, Nikulina IN, Pakhomov VP, et al. Method for determining antioxidation activity. (In Russ.)
9. Patent RU2482863C1/27.05.2013. Bucharskaya AB, Durnova NA, Maslyakova GN, et al. Sposob polucheniya sukhogo ekstrakta iz rastitel'nogo syr'ya, obladayushchego biologicheskoy aktivnost'yu. (In Russ.)
10. Starchak YuA. Farmakognosticheskoe izuchenie rasteniy roda tim'yan (*Thymus* L.) kak perspektivnogo istochnika polucheniya fitopreparatov [dissertation]. Samara; 2016. (In Russ.). Available from: <http://www.samsmu.ru/files/referats/2016/starchak/dissertation.pdf>. Accessed: 26.03.2020.
11. Sheremetyeva AS, Durnova NA, Beretzsky MA. Soderzhanie efirnykh masel v trave raznykh vidov roda tim'yan (*Thymus* L.). *Byulleten' botanicheskogo sada Saratovskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2017;15(2):15–19. (In Russ.). DOI: 10.18500/1682-1637-2017-15-2-15-19
12. Sheremetyeva AS, Durnova NA, Raykova SV. Issledovanie antimikrobnoy aktivnosti vodno-spirovogo ekstrakta *Thymus marchallianus*. Proceedings of the VII Scientific Conference with International Participation “Sovremennye tendentsii razvitiya tekhnologiy zdorov'esberezeniya”; Des 19, 2019. Moscow; 2019. P. 509–514. (In Russ.)
13. Niculae M, Hanganu D, Oniga I, et al. Phytochemical profile and antimicrobial potential of extracts obtained from *Thymus marchallianus* Willd. *Molecules*. 2019;24(17):3101.

References

1. Durnova NA, Afanasieva GA, Kurchatova MN, et al. Soderzhanie markerov oksidativnogo stressa v plazme krovi pod deystviem ekstraktov avrana lekarstvennogo, bessmertnika peschanogo, antotsianovoy formy kukuruzy obyknovnoy v usloviyakh indutsirovannogo okislitel'nogo stressa. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2015;(78):36–40. (In Russ.)
2. Durnova NA, Romanteeva JuV, Kovtun AN. Khimicheskii sostav efirnykh masel *Thymus marchallianus* Willd. i *Thymus pallasianus* H. Br., proizrastayushchikh na territorii Saratovskoy oblasti. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2014;(2):115–119. (In Russ.)
3. Kurchatova MN, Sheremetyeva AS, Chemarev AP. Protiopukhlevaya aktivnost' prirodnykh antioksidantov: uroven' izuchennosti, perspektivy. Proceedings of the International Scientific and Practical Conferences “Innovatsionnoe razvitie: potentsial nauki i sovremennogo obrazovaniya”; 2018 Jan, Penza. Penza; 2018. P. 51–54. (In Russ.)
4. Meditsinskie laboratornye tekhnologii: spravochnik. Ed. by A.I. Karpishchenko. Saint Petersburg; 2002. (In Russ.)

■ Информация об авторах

Анна Сергеевна Шереметьева — старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники. ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Наталья Анатольевна Дурнова — доктор биологических наук, доцент, заведующая кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники. ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. E-mail: ndurnova@mail.ru

Юлия Григорьевна Чернышева — студентка 4-го курса фармацевтического факультета. ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, Саратов, Россия. E-mail: 27july27@mail.ru

■ Information about the authors

Anna S. Sheremetyeva — Senior Lecturer, Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Natalya A. Durnova — Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. E-mail: ndurnova@mail.ru

Yulia G. Chernysheva — 4th year student, Faculty of Pharmacy. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russia. E-mail: 27july27@mail.ru

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ТРАВЫ МОНАРДЫ ДУДЧАТОЙ (*MONARDA FISTULOSA* L.)

А.С. Цибина, В.А. Куркин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Цибина А.С., Куркин В.А. Актуальные аспекты фармакогностического исследования травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 132–140. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.132-140>

Поступила: 15.08.2021

Одобрена: 02.09.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** Монарда дудчатая (*Monarda fistulosa* L.) успешно культивируется на территории России. Известно применение травы чабреца, тимьяна обыкновенного и душицы обыкновенной в качестве средств, обладающих антимикробным, противогрибковым и противовоспалительным действием, что объясняется наличием тимола и карвакрола в сырье. Однако монарда дудчатая не уступает перечисленным растениям по содержанию данных компонентов.

Цель — изучение химического состава, выявление наиболее значимых для диагностики морфолого-анатомических и химических признаков сырья, а также разработка методов стандартизации травы монарды дудчатой в соответствии с современными требованиями фармацевтического анализа.

Материалы и методы. Травя монарды дудчатой заготовлена в период массового цветения на территории Ботанического сада Самарского университета в 2016–2019 гг. Морфолого-анатомическое исследование осуществляли методом световой микроскопии в проходящем и отраженном свете. Люминесцентную микроскопию проводили на люминесцентном микроскопе марки «Альтами» ЛЮМ 2. Индивидуальные вещества выделяли методом колоночной хроматографии. В исследовании использовали прибор Bruker DRX 500 для определения спектров ЯМР ¹³C, Bruker AM 300 — для определения спектров ЯМР ¹H. Масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30, регистрацию УФ-спектров проводили с помощью спектрофотометра Sprecord 40 (Analytik Jena).

Результаты. В настоящей работе представлены результаты исследований в области стандартизации сырья монарды дудчатой. В результате экспериментальной работы определены характерные анатомо-морфологические признаки растения. Из травы исследуемого сырья впервые выделены доминирующие флавоноиды — изороиолин, линарин, а также другие флавоноиды — дидимин, акацетин, апигенин. Авторами получено из травы монарды дудчатой новое природное соединение — 5-О-рутинозид апигенина. Разработаны методики качественного анализа травы монарды дудчатой с использованием тонкослойной хроматографии (в присутствии тимола и рутина) и спектрофотометрии (максимумы поглощения при длине волны 270 ± 2 и 330 ± 2 нм). Разработана методика количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве *Monarda fistulosa* L. с использованием дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 394 нм.

Заключение. Полученные результаты использованы при составлении проекта фармакопейной статьи на новый вид сырья «Монарды дудчатой трава».

▪ **Ключевые слова:** монарда дудчатая; *Monarda fistulosa* L.; трава; лекарственное растительное сырье; эфирное масло; флавоноиды.

CURRENT ISSUES OF THE PHARMACOGNOSTIC STUDY *MONARDA FISTULOSA* L. HERB

A.S. Tsibina, V.A. Kurkin

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Tsibina AS, Kurkin VA. Current issues of the pharmacognostic study *Monarda fistulosa* L. herb. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):132–140. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.132-140>

Received: 15.08.2021

Revised: 02.09.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** The *Monarda fistulosa* L. is successfully cultivated in Russia. The herbs of *Thymus vulgaris*, *Thymus serpyllum* and *Origanum vulgare* are used as agents with antimicrobial, antifungal and anti-inflammatory effects, it is due to the presence of thymol and carvacrol in the raw material. However *Monarda fistulosa* is not inferior to the listed plants.

AIM: The aim is to study the chemical composition, to identify significant morphological, anatomical and chemical signs of raw materials for diagnostics, as well as to develop methods to standardize the herb of *Monarda fistulosa* in accordance with the modern requirements of pharmaceutical analysis.

MATERIALS AND METHODS: The herb of *Monarda fistulosa* was harvested during the period of mass flowering in the Botanical Garden of Samara University in 2016-2019. Morphological and anatomical examination was carried out by the method of light microscopy in transmitted and reflected light. Luminescence microscopy was carried out on a luminescence microscope Altami LUM 2. Individual substances were isolated by column chromatography. The ^{13}C NMR spectra was evaluated by means of the instrument Bruker DRX 500, and Bruker AM 300 was used to record ^1H NMR spectra. Mass spectra were recorded on mass spectrometer Kratos MS-30; UV spectra were recorded using a Specord 40 spectrophotometer (Analytik Jena).

RESULTS: This paper discusses the results of research in the field of standardization of raw materials for *Monarda fistulosa*. As a result of the experimental work, characteristic anatomical and morphological features of the plant were determined. For the first time, the dominant flavonoids like isoroifolin, linarin, and other flavonoids like didimine, acacetin, apigenin were isolated from the herb of the studied raw material. The authors isolated a new natural compound 5-O-rutinoside apigenin from the herb of *Monarda fistulosa*. Methods for the qualitative analysis of the herb *Monarda fistulosa* have been developed using thin-layer chromatography (in the presence of thymol and rutin) and spectrophotometry (absorption maxima at a wavelength of 270 ± 2 and 330 ± 2 nm). A method has been developed for the quantitative determination of the total flavonoid content in the herb *Monarda fistulosa* L. using differential spectrophotometry at the analytical wavelength of 394 nm.

CONCLUSIONS: The obtained results were used in the drafting of the pharmacopoeial monograph for the new type of raw material "*Monarda fistulosa* L. herb".

▪ **Keywords:** *Monarda fistulosa* L.; herb; medicinal herbal raw materials; essential oil; flavonoids.

Введение

Монарда дудчатая (*Monarda fistulosa* L.) или дикий бергамот относится к семейству Яснотковые *Lamiaceae* [28]. В диком виде на территории Российской Федерации данный вид не встречается (родина — Северная Америка), однако монарда дудчатая успешно культивируется на территории Московской, Самарской и Новосибирской областей, в Ставропольском крае, Республике Крым и Республике Башкортостан [6, 11, 12, 14, 28].

В работах отечественных и зарубежных ученых большое внимание уделяется эфирному маслу данного вида, в составе которого чаще всего преобладают простые фенолы — тимол и карвакрол. Наряду с этими веществами в эфирном масле монарды дудчатой определяются *n*-цимол, линалоол, γ -терпинен, 1-октен-3-ол, β -мирцен, α -терпинен, тимохинон, карвакрола метиловый эфир, цинеол, α -пинен, камфора, камфен, фарнезол [1, 2, 5, 8, 9, 18, 21, 23, 24, 27].

Не менее интересна другая группа фенольных соединений монарды дудчатой — флавоноиды. Согласно литературным источникам, в монарде дудчатой содержатся флавоны (лютеолин, лютеолин-7-глюкозид, диосмин), флавонолы (кемпферол, кверцетин, гиперозид, рутин), а также флаванон — нарингенин [2, 3,

6, 7, 16, 26]. Для сырья исследуемого растения описаны дубильные вещества, тритерпеновые сапонины (урсоловая и олеаноловая кислоты), фенилпропаноиды (розмариновая кислота), смолистые вещества [6, 22, 26].

Компонентный состав сырья обуславливает широкую направленность фармакологических свойств монарды дудчатой. Эфирное масло монарды дудчатой определяет антимикробную активность в отношении *Nisseria catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Enterobacater cloacae*, *Citrobacter OG* и *Serrabia marcesnes*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*. Доказано, что эфирное масло монарды оказывает противогрибковое действие в отношении грибов *Aspergillus niger* и *Candida albicans* [4, 11, 12, 15, 18, 25, 26]. Анализ литературных данных позволил выявить и некоторые другие направления фармакологического действия сырья, а именно: противовоспалительное, антигельминтное, противовирусное, антиоксидантное, противосклеротическое, антисеборейное, иммуномодулирующее, радиопротекторное, противораковое, что подтверждает перспективность исследования травы монарды дудчатой [5, 6, 10, 13, 17, 19, 20, 25].

В настоящее время основными источниками тимола выступают такие представители семейства *Lamiaceae*, как тимьян обыкновенный, душица обыкновенная, чабрец. Однако монарда дудчатая ничуть не уступает перечисленным растениям. А ввиду достаточной высоты (достигает 120 см) и большой фитомассы монарда дудчатая представляется нам перспективным растением в плане механизированной заготовки сырья.

Таким образом, **целью исследования** стало изучение химического состава, выявление наиболее значимых для диагностики морфолого-анатомических и химических признаков сырья, а также разработка методов стандартизации травы монарды дудчатой в соответствии с современными требованиями фармацевтического анализа.

Материалы и методы

Объектом исследования служила воздушно-сухая трава монарды дудчатой, собранная в период массового цветения в 2016–2019 гг. в Самарской области на территории Ботанического сада Самарского университета. Сушка сырья проводилась естественным способом под навесами. В исследовании использовали методы морфолого-анатомического анализа, метод колоночной, тонкослойной хроматографии (ТСХ), метод спектроскопии и спектрофотометрии в ультрафиолетовой области спектра, а также метод ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Исследование микропрепаратов в проходящем и отраженном свете проводили с помощью цифровых микроскопов марки Motic: DM-111 и DM-39C-N9GO-A. На люминесцентном микроскопе марки «Альтами» ЛЮМ 2 проводили исследование люминесценции тканей травы монарды дудчатой (с применением голубого и желтого светофильтра 32 мм). Источником света служила высоковольтная ртутная лампа (НВО 100 Вт); спектральный диапазон возбуждения люминесценции: голубой светофильтр — 420–550 нм; желтый светофильтр — 330–400 нм. Индивидуальные вещества выделяли из травы *M. fistulosa* на хроматографической колонке с силикагелем L 40/100. В методе ТСХ разделение проводили на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ в системе этиловый спирт – хлороформ – вода в соотношении компонентов 26 : 16 : 3. В качестве вещества-свидетеля использовали стандартные образцы рутин и тимола. Зоны, соответствующие биологически активным веществам (БАВ), детектировали в УФ-свете при длине волны 254 и 366 нм.

Спектрофотометрический анализ проводили на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena) в кюветах с толщиной слоя 10 мм в диапазоне длин волн от 190 до 600 нм. Спектры ЯМР ^1H получали на приборе Bruker AM 300, спектры ЯМР ^{13}C — на приборе Bruker DRX 500, масс-спектры снимали на масс-спектрометре Kratos MS-30.

Результаты и обсуждение

Нами был проведен морфолого-анатомический анализ травы монарды дудчатой, при этом большое внимание было уделено петиолярной анатомии. Для апикальной части черешка монарды дудчатой характерна особая U-образная форма выемки черешка. Наиболее важная для диагностики — базальная часть черешка, имеющая неправильную овальную форму, тангентально вдавленную с адаксиальной стороны, а также широкоокруглую форму абаксиальной части и ребер. Стоит отметить, что угол наклона ребра к плоскости у монарды дудчатой практически равен 0° . Микроскопическое исследование стебля монарды дудчатой позволило определить его непучковое строение, угловая колленхима обнаруживается только в ребрах стебля, лигнифицированные сосуды ксилемы располагаются угловыми секторами в его ребрах. Клетки эпидермиса стебля вытянутой многоугольной формы, без извилинности; устьичный аппарат диацитного типа; опушение слабое, состоит из простых многоклеточных волосков, эфиромасличных железок. Для листа монарды дудчатой характерно наличие трихом (простые одно- и многоклеточные волоски с утолщенными целлюлозными клеточными стенками и бородавчатой кутикулой, простые сосочковидные волоски, а также эфиромасличные железки) по обеим сторонам листа. В тканях завязи пестика и рыльца, в проводящих элементах черешка, а также по всей длине тычиночных нитей монарды дудчатой обнаружено кристаллическое включение флавоноидного происхождения.

На внутренней и наружной поверхности чашечки цветка монарды дудчатой располагаются длинные простые многоклеточные волоски, эфиромасличные железки, простые железистые волоски, а также редкие пельтатные железистые трихомы расположены по поверхности зубцов чашечки. По внутренней поверхности трубки венчика цветка монарды дудчатой располагаются волоски с многоклеточной ножкой и одноклеточной головкой, а также мелкие железистые двуклеточные трихомы.

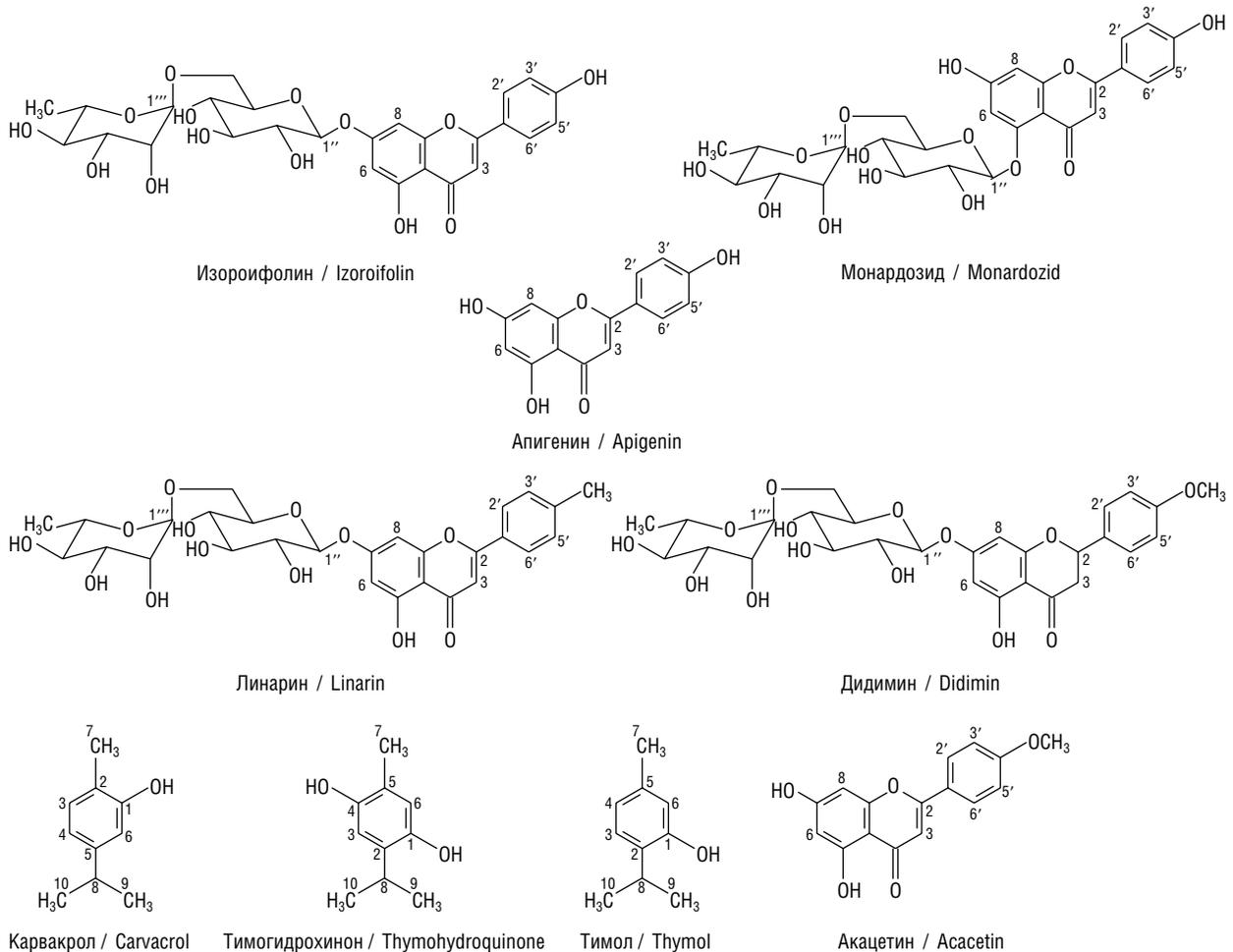


Рис. 1. Структурные формулы индивидуальных веществ, выделенных из травы монарды дудчатой

Fig. 1. Structural formulas of individual substances isolated from the herb of *Monarda fistulosa*

В ходе колоночной хроматографии из травы *M. fistulosa* L. нами были выделены флавоноиды. Флавоны: изорифолин (7-О-рутинозид апигенина), линарин (7-О-рутинозид акацетина), апигенин, акацетин и флаванон — дидимин (7-О-рутинозид изосакурнетина) — ранее не выделялись из исследуемого вида растения. Кроме того, было получено новое природное соединение — 5-О-рутинозид апигенина (названо авторами — монардозид).

Метод колоночной хроматографии также позволил выделить из травы монарды дудчатой характерные для исследуемого вида монотерпеновые фенолы — карвакрол, тимол, тимогидрохинон (рис. 1).

Исследование микроскопических срезов травы монарды дудчатой и полученных индивидуальных веществ с использованием люминесцентного микроскопа позволило обнаружить, что цвет люминесценции кристаллического включения (было обнаружено нами по всей длине тычиночных нитей, в тканях завязи, столбика и рыльца пестика,

а также в проводящих тканях черешка) соответствует люминесценции линарина и изорифолина при соответствующих длинах волн (рис. 2).

Характер свечения флавона апигенина (при длине волны 360 нм имеет ярко-розовое свечение, а при 420 нм — ярко-красное) соответствует характеру свечения протопластов клеток основной паренхимы черешков монарды дудчатой (рис. 3).

Учитывая полученные данные о химическом составе травы монарды дудчатой, мы предлагаем методики стандартизации изучаемого сырья по двум группам БАВ — эфирному маслу (ведущая группа БАВ) и флавоноидам. Данный подход, по нашему мнению, соответствует современным тенденциям фармакопейного анализа.

Исследование, проведенное методом ТСХ, показало, что на хроматограммах водно-спиртовых извлечений травы монарды дудчатой доминирующими компонентами являются изорифолин и линарин. Данные флавоноиды при длине волны 366 нм имеют голубое

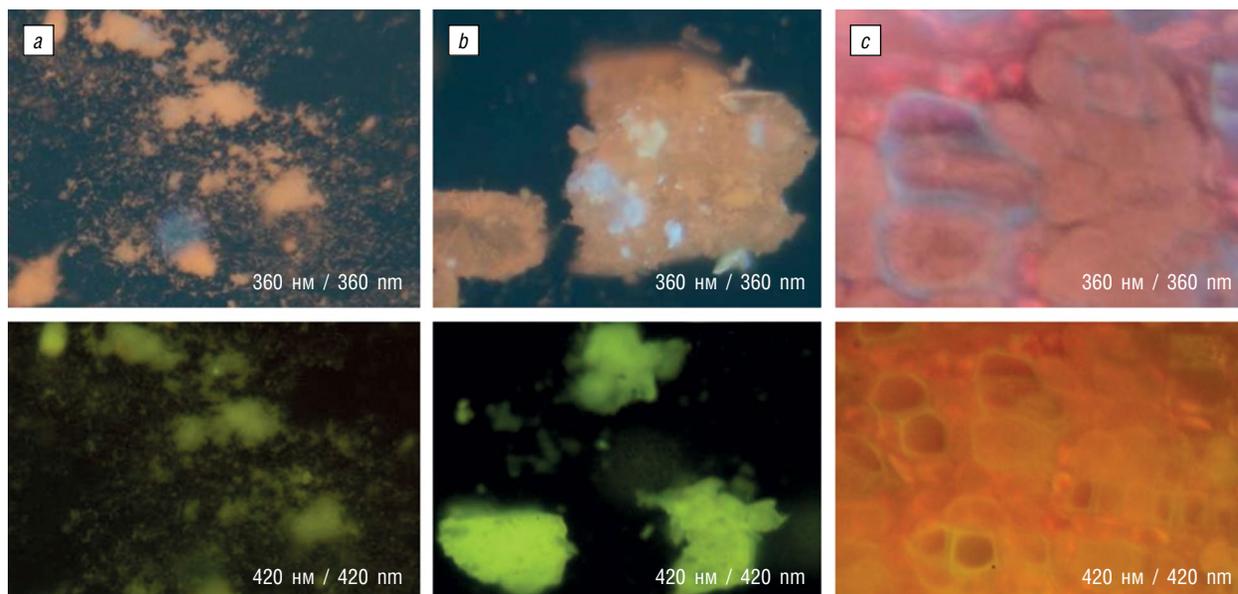


Рис. 2. Люминесцентная микроскопия индивидуальных веществ и кристаллического включения травы монарды: *a* — линарин; *b* — изороифолин; *c* — кристаллическое включение в сырье

Fig. 2. Luminescence microscopy of individual substances and crystalline inclusion of the herb of monarda: *a* — linarin; *b* — isorhoifolin; *c* — crystalline inclusion in the raw material

и желто-бурое свечение соответственно. Ввиду отсутствия стандартных образцов изороифолина и линарина не представляется возможным использование данных веществ в качестве растворов-свидетелей при определении подлинности травы монарды дудчатой. По этой причине нами предложен показатель R_{st} . Показатель R_{st}

изороифолина относительно рутина составляет 1,15, линарина — 1,30. При последующем проявлении хроматограммы щелочным раствором диазобензолсульфоиклоты на уровне пятна тимола обнаруживается пятно оранжево-красного цвета, которое соответствует смеси тимола и карвакрола.

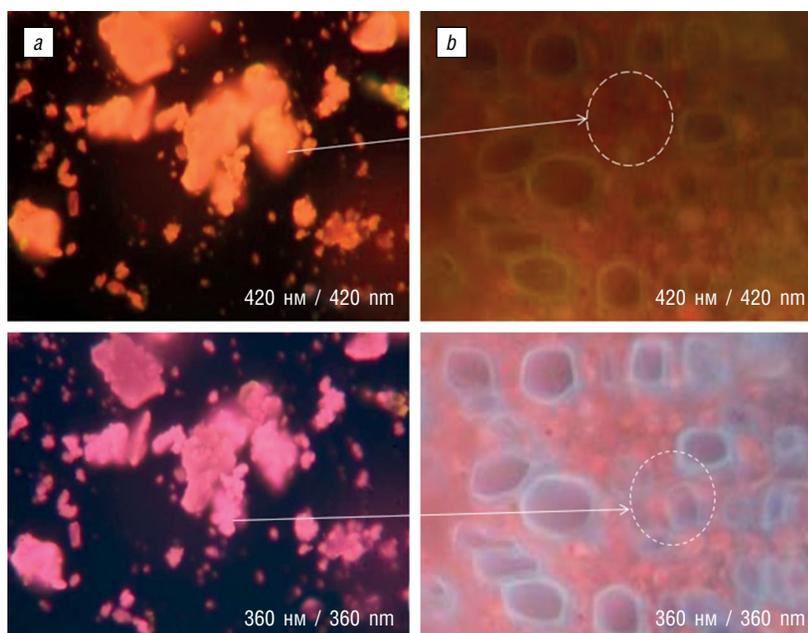


Рис. 3. Люминесцентная микроскопия индивидуального вещества монарды дудчатой и основной паренхимы: *a* — апигенин; *b* — основная паренхима черешка

Fig. 3. Luminescence microscopy of the individual substance of the *Monarda fistulosa* and ground parenchyma: *a* — apigenin; *b* — ground parenchyma of the petiole

Достаточно информативен электронный спектр водно-спиртового извлечения из травы монарды дудчатой (рис. 4): два интенсивных максимума поглощения при длине волны $\lambda_{\max} = 270 \pm 2$ и 330 ± 2 нм (флавоноиды). Изучение УФ-спектра водно-спиртового извлечения (дифференциальный вариант) показало, что основной максимум поглощения наблюдается при длине волны 394 нм (рис. 5).

При разработке методики количественного определения суммы флавоноидов в сырье «Монарды дудчатой трава» были использованы ранее определенные нами оптимальные параметры: экстракция 60 % этиловым спиртом в соотношении сырье/экстрактант 1 : 50, экстракция на кипящей водяной бане в течение часа.

Для расчета содержания суммы флавоноидов нами определен удельный показатель поглощения изороифолина, который, по нашим данным, является доминирующим флавоновым гликозидом и во многом определяет спектральные характеристики. Следовательно, для количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве монарды дудчатой целесообразно использовать метод дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 394 нм, используя при этом значение удельного показателя поглощения ($E_{1\text{ см}}^{1\%}$) равное 195.

Заключение

В рамках проведенной работы выявлены характерные анатомо-морфологические особенности травы монарды дудчатой, выделены индивидуальные биологически активные соединения исследуемого сырья. С помощью люминесцентной микроскопии установлена взаимосвязь между характером свечения тканей и химическим составом монарды дудчатой. На основе результатов исследований разработаны методики качественного и количественного анализа действующих веществ в траве монарды дудчатой.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Анищенко И.Е., Пупыкина К.А. Красюк Е.В., Жигонов О.Ю. Компонентный состав эфирных масел некоторых представителей рода *Monarda* L., интродуцированных в республике Башкортостан // Известия Уфимского научного центра Российской академии наук. 2017. № 3. С.71–76.
2. Высочина Г.И. Род *Monarda* L. (*Lamiaceae*): химический состав, биологическая активность и прак-

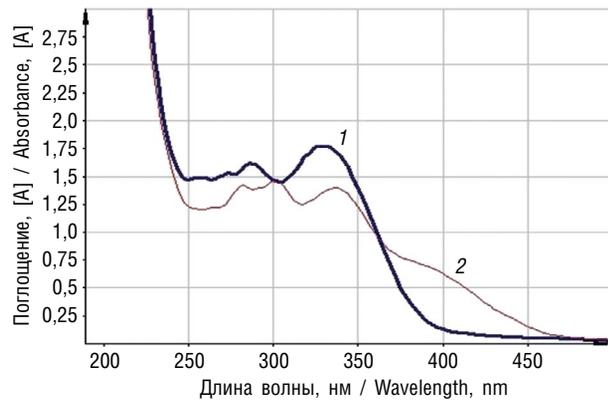


Рис. 4. Электронные спектры водно-спиртового извлечения из травы монарды дудчатой: 1 — извлечение; 2 — извлечение с добавлением алюминия хлорида

Fig. 4. Electronic spectra of aqueous-alcoholic extract from the herb of *Monarda fistulosa*: 1 — extraction; 2 — extraction with the addition of aluminum chloride

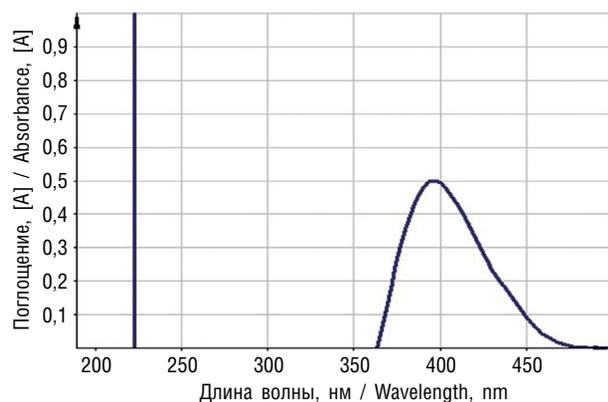


Рис. 5. Дифференциальный спектр водно-спиртового извлечения из травы монарды дудчатой

Fig. 5. Differential spectrum of aqueous-alcoholic extract from herbs of *Monarda fistulosa*

тическое применение (обзор) // Химия в интересах устойчивого развития. 2020. Т. 28, № 2. С. 107–123. DOI: 10.15372/KhUR2020209

3. Дмитриенко С.Г., Степанова А.В., Кудринская В.А., Апяри В.В. Особенности разделения флавоноидов методом обращенно-фазовой высокоэффективной хроматографии на колонке Luna 5u C18(2) // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2012. Т. 53, № 6. С. 369–373.
4. Жилыкова Е.Т., Новиков О.О., Науменко Е.Н. и др. Исследование антимикробной и противовоспалительной активности новой лекарственной формы с маслом монарды // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. 2013. № 25–1(168). С. 198–201.
5. Исмаилова Э.Т., Шемшуря О.Н., Сейтбатталова А.И. Фенольные соединения рода *monarda* // Доклады Национальной академии наук Республики Казахстан. 2015. № 6. С. 110–118.

6. Красюк Е.В. Фармакогностическое исследование видов Монарды, интродуцируемых на территории Республики Башкортостан: дис. ... канд. фарм. наук. Уфа, 2020.
7. Красюк Е.В., Пупыкина К.А. Качественный анализ и разработка методики количественного определения флавоноидов в видах монарды, интродуцируемых в Республике Башкортостан // Медицинский вестник Башкортостана. 2016. Т. 11, № 5(65). С. 73–77.
8. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов. 5-е изд., перераб. и доп. Самара, 2020.
9. Логвиненко Л.А., Хлыпенко Л.А., Марко Н.В. Ароматические растения семейства *Lamiaceae* для фитотерапии // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4, № 4. С. 34–47. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-4-34-47
10. Марченко М.А. Разработка противовоспалительного стоматологического геля на основе экстракта из травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) // «Молодая наука–2016». Материалы научно-практической конференции. Пятигорск, 2016. С. 36–38.
11. Машенко З.Е. Фитохимическое исследование и стандартизация тимолсодержащих растений семейства Яснотковых: дис. ... канд. фарм. наук. Пермь, 2004.
12. Николаевский В.В. Ароматерапия: справочник. М.: Медицина, 2000.
13. Науменко Е.Н., Жиякова Е.Т., Новиков О.О. и др. Исследование иммуномодулирующей активности эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Естественные науки. 2012. № 21–1(140). С. 154–158.
14. Опарин Р.В., Покровский Л.М., Высочина Г.И., Ткачев А.В. Исследование химического состава эфирного масла *Monarda fistulosa* L. и *Monarda didyma* L., культивируемых в условиях Западной Сибири // Химия растительного сырья. 2000. № 3. С. 19–24.
15. Патент RU2452470C1/10.06.2012. Чубатова С.А., Зурабов А.Ю., Чубатова О.Ю. и др. Композиция из взвеси липосом для профилактики и лечения воздушно-капельных инфекций, в частности туберкулеза (варианты), и способ ее аэрогенной доставки.
16. Саргсян Е.Э., Никитина А.С., Степанюк С.Н. Изучение флавоноидов травы монарды дудчатой (*Monarda fistulosa* L.) // «Беликовские чтения»: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции. Пятигорск, 2015. С. 128–129.
17. Тихомиров А.А., Говорун М.И. Защитное действие эфирных масел при облучении животных и возможность их использования у человека // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2015. № 114. С. 31–38.
18. Федотов С.В. Эфирные масла монард видов *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* Cervantes ex Lag., их хемотипы и биологическая активность // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 2015. Т. 141. С. 131–147.
19. Хлыпенко Л.А., Логвиненко Л.А., Шевчук О.М. и др. Малораспространенные ароматические растения как источник эфирных масел широкого спектра действия // Сборник научных трудов Государственного Никитского ботанического сада. 2015. Т. 141. С. 110–117.
20. Шутова Т.Г., Шутова А.Г., Варданян Л.Р. и др. Ингибирование окисления эмульсий ненасыщенных жирных кислот эфирными маслами монарды дудчатой и тысячелистника обыкновенного // Труды Белорусского государственного университета. 2013. Т. 8, № 1. С. 111–116.
21. Яшкин С.Н., Агеева Ю.А. Метод структурной аналогии в нестандартной идентификации изомерных фенолов в экстракте эфирного масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) // Сорбционные и хроматографические процессы. 2013. Т. 13, № 2. С. 173–181.
22. Carron C.-A. *Monarda fistulosa*, a natural source of geraniol, rosmarinic acid and flavonoids // Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture (Switzerland). 2009. Vol. 39, No. 4. P. 229–235.
23. Ghosh M., Schepetkin I.A., Özek G. et al. Essential oils from *Monarda fistulosa*: chemical composition and activation of transient receptor potential A1 (TRPA1) channels // Molecules. 2020. Vol. 25, No. 21. P. 4873. DOI: 10.3390/molecules25214873
24. Lawson S.K., Satyal P., Setzer W.N. The volatile phytochemistry of *Monarda* species growing in South Alabama // Plants (Basel). 2021. Vol. 10, No. 3. P. 482. DOI: 10.3390/plants10030482
25. Pang, J., Shen N., Yan F. et al. Thymoquinone exerts potent growth-suppressive activity on leukemia through DNA hypermethylation reversal in leukemia cells // Oncotarget. 2017. Vol. 8, No. 21. P. 34453–34467. DOI: 10.18632/oncotarget.16431
26. Shanaida M., Jasicka-Misiak I., Makowicz E. et al. Development of high-performance thin layer chromatography method for identification of phenolic compounds and quantification of rosmarinic acid content in some species of the *Lamiaceae* family // J. Pharm. Bioallied Sci. 2020. Vol. 12, No. 2. P. 139–145. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS_322_19
27. Sovova H., Sajfrtova M., Topiar M. Supercritical CO₂ extraction of volatile thymoquinone from *Monarda didyma* and *M. fistulosa* herbs // J. Supercritical fluids. 2015. Vol. 105. P. 29–34. DOI: 10.1016/j.supflu.2015.01.004
28. Wild bergamot (*Monarda fistulosa* L.) [Электронный ресурс] // United States Department of Agriculture. Режим доступа: https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/cs_mofi.pdf. Дата обращения: 14.08.2021.

References

1. Anishchenko IE, Pupykina KA, Krasnyuk EV, Zhigunov OYu. The component structure of essential oils from some representatives of the genus *Monarda* L.

- introduced into the republic of Bashkortostan. *Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN*. 2017;(3):71–76. (In Russ.)
2. Vysochina GI. Genus *Monarda* (*Lamiaceae*): chemical composition, biological activity and practical application (a review). *Khimiya v interesakh ustoychivogo razvitiya*. 2020;28(2):107–123. (In Russ.). DOI: 10.15372/KhUR2020209
 3. Dmitriyenko SG, Stepanova AV, Kudrinskaya VA, Apyari VV. Specifics of separation of flavonoids by reverse phase high performance liquid chromatography on the Luna 5u C18(2) column. *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2012;53(6):369–373. (In Russ.)
 4. Zhilyakova ET, Novikov OO, Naumenko EN, et al. Issledovanie antimikrobnoy i protivovospalitel'noy aktivnosti novoy lekarstvennoy formy s maslom monardy. *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*. 2013;(25-1(168)):198–201. (In Russ.)
 5. Ismailova ET, Shemshura ON, Seitbatalova AI. Phenolic compounds of plants of the monarda sorts. *Reports of National academy of sciences of the Republic of Kazakhstan*. 2015;(6):110–118. (In Russ.)
 6. Krasnyuk EV. Farmakognosticheskoe issledovanie vidov Monardy, introducirovannykh na territorii Respubliki Bashkortostan [dissertation]. Ufa; 2020. (In Russ.)
 7. Krasnyuk EV, Pupykina KA. Qualitative analysis and development of methods of quantification of flavonoids in monarda species introduced in the republic of Bashkortostan. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2016;11(5(65)):73–77. (In Russ.)
 8. Kurkin VA. Farmakognositsiya: uchebnik dlya studentov farmacevticheskikh vuzov. 5th ed. Samara; 2020. (In Russ.)
 9. Logvinenko LA, Khlypenko LA, Marko NV. Aromatic plant of lamiaceae family for use in phytotherapy. *Farmatsiya i farmakologiya*. 2016;4(4):34–47. (In Russ.). DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-4-34-47
 10. Marchenko MA. Razrabotka protivovospalitel'nogo stomatologicheskogo gelya na osnove ekstrakta iz travy monardy dudchatoy (*Monarda fistulosa*). Proceedings of the nauchno-prakticheskaya konferentsiya "Molodaya nauka – 2016". Pyatigorsk; 2016. P. 36–38. (In Russ.)
 11. Mashchenko ZE. Fitokhimicheskoye issledovaniye i standartizatsiya timolsoderzhashchikh rasteniy semeystva Yafsnokovykh [dissertation]. Perm'; 2004. (In Russ.)
 12. Nikolayevskiy VV. Aromaterapiya: spravochnik. Moscow: Meditsina; 2000. (In Russ.)
 13. Naumenko EN, Zhilyakova ET, Novikov OO, et al. Issledovaniye immunomoduliruyushchey aktivnosti efirnogo masla monardy dudchatoy (*Monarda fistulosa*). *Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Estestvennyye nauki*. 2012;(21-1(140)):154–158. (In Russ.)
 14. Oparin RV, Pokrovskiy LM, Vysochina GI, Tkachev AV. Issledovanie himicheskogo sostava efirnogo masla *Monarda fistulosa* L. i *Monarda didyma* L., kul'tiviruemykh v usloviyakh Zapadnoy Sibiri. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2000;(3):19–24. (In Russ.)
 15. Patent RU2452470C1/10.06.2012. Chubatova SA, Zurabov AYu, Chubatova O.Yu, et al. Kompozitsiya iz vzvesi liposom dlya profilaktiki i lecheniya vozdushno-kapel'nykh infektsiy, v chastnosti tuberkuleza (varianty), i sposob ee aerogennoy dostavki. (In Russ.)
 16. Sargsyan EE, Nikitina AS, Stepanyuk SN. Izucheniye flavonoidov travy monardy dudchatoy (*Monarda fistulosa* L.). Proceedings of the IV All-Russian Scientific and Practical Conference "Belikovskie chteniya". Pyatigorsk; 2015. P. 128–129. (In Russ.)
 17. Tikhomirov AA, Govorun MI. Protective action of essential oils in case of animal irradiation and possible appliance for human. *Bull of the State Nikit Botan Gard*. 2015;(114):31–38. (In Russ.)
 18. Fedotov SV. Monarda essential oils of *Monarda fistulosa* L., *Monarda didyma* L., *Monarda citriodora* cervantes ex lag., their chemotypes and biological activity. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*. 2015;141:131–147. (In Russ.)
 19. Khlypenko LA, Logvinenko LA, Shevchuk OM, et al. Rare aromatic plants as a source of broad-spectrum essential oils. *Sbornik nauchnykh trudov Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada*. 2015;141:110–117. (In Russ.)
 20. Shutova TG, Shutova AG, Vardanyan LR, et al. Ingibirovaniye okisleniya emul'sij nenasyshchennykh zhirnykh kislot efirnymi maslami monardy dudchatoy i tsysachelistnika obyknovennogo. *Proceedings of the Belarusian State University. Series of Physiological, Biochemical and Molecular Biology Sciences*. 2013;8(1):111–116. (In Russ.)
 21. Yashkin SN, Ageeva A. Metod strukturnoy analogii v besstandartnoy identifikatsii izomernykh fenolov v ekstrakthe efirnogo masla monardy dudchatoy (*Monarda fistulosa*). *Sorbtsionnyye i khromatograficheskie protsessy*. 2013;13(2):173–178. (In Russ.)
 22. Carron G-A. *Monarda fistulosa*, a natural source of geraniol, rosmarinic acid and flavonoids. *Revue suisse de viticulture, arboriculture, horticulture (Switzerland)*. 2009;39(4):229–235.
 23. Ghosh M, Schepetkin IA, Özek G, et al. Essential oils from *Monarda fistulosa*: chemical composition and activation of transient receptor potential A1 (TRPA1) channels. *Molecules*. 2020;25(21):4873. DOI: 10.3390/molecules25214873
 24. Lawson SK, Satyal P, Setzer WN. The volatile phytochemistry of *Monarda* species growing in South Alabama. *Plants (Basel)*. 2021;10(3):482. DOI: 10.3390/plants10030482
 25. Pang, J, Shen N, Yan F, et al. Thymoquinone exerts potent growth-suppressive activity on leukemia through DNA hypermethylation reversal in leu-

- kemia cells. *Oncotarget*. 2017;8(21):34453–34467. DOI: 10.18632/oncotarget.16431
26. Shanida M, Jasicka-Misiak I, Makowicz E, et al. Development of high-performance thin layer chromatography method for identification of phenolic compounds and quantification of rosmarinic acid content in some species of the *Lamiaceae* family. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(2):139–145. DOI: 10.4103/jpbs.JPBS_322_19
27. Sovova H, Sajrtova M, Topiar M. Supercritical CO₂ extraction of volatile thymoquinone from *Monarda didyma* and *M. fistulosa* herbs. *J Supercritical fluids*. 2015;105:29–34. DOI: 10.1016/j.supflu.2015.01.004
28. Wild bergamot (*Monarda fistulosa* L.) [Internet]. *United States Department of Agriculture*. Available from: https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/cs_mofi.pdf. Accessed: 14.08.2021.

▪ Информация об авторах

Анастасия Сергеевна Цибина — кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармакологии имени заслуженного деятеля науки РФ профессора А.А. Лебедева. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: a.s.tsibina@samsmu.ru

Владимир Александрович Куркин — доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

▪ Information about the authors

Anastasiya S. Tsibina — Candidate of Pharmaceuticals Sciences, Assistant, Department of Pharmacology named after Honored Scientist of the Russian Federation Professor A.A. Lebedev. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: a.s.tsibina@samsmu.ru

Vladimir A. Kurkin — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with Botany and Bases of Phytotherapy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: Kurkinvladimir@yandex.ru

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГРУДНОГО СБОРА № 2: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

В.В. Чевидав¹, Д.О. Боков^{1,2}, И.А. Самылина¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

Как цитировать: Чевидав В.В., Боков Д.О., Самылина И.А. Стандартизация грудного сбора № 2: современное состояние и перспективы // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 141–149. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.141-149>

Поступила: 14.07.2021

Одобрена: 19.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ Заболевания органов дыхательной системы на сегодняшний день — распространенная проблема для национального и глобального здравоохранения. Рынок лекарственных препаратов, направленных на профилактику и терапию данных заболеваний, представлен препаратами синтетического и природного происхождения. Последние являются главным образом растительными лекарственными средствами, особое место среди которых занимают растительные сборы. Грудной сбор № 2 — многокомпонентный лекарственный растительный препарат, применяемый при заболеваниях органов верхних дыхательных путей и включающий листья мать-и-мачехи (40 %), листья подорожника (30 %) и корни солодки (30 %); выпускается сбор-порошок в фильтр-пакетах и сбор измельченный в картонных пачках с внутренним пакетом. На основании информационно-аналитического исследования в настоящей работе сформулированы подходы к стандартизации грудного сбора № 2. Сегодня настой является основной лекарственной формой сбора; водорастворимые биологически активные соединения наиболее полно переходят в водное извлечение и ответственны за проявляемые фармакологические эффекты грудного сбора № 2 (полисахариды и тритерпеновые соединения). Разработку современной нормативной документации на комплексные растительные препараты (сборы) необходимо проводить с учетом научно обоснованных данных и гармонизированных требований. Требуются дополнительные экспериментальные исследования, позволяющие обосновать показатели и нормы подлинности и доброкачества грудного сбора № 2. Современная нормативная документация на фармацевтические субстанции растительного происхождения и лекарственные растительные препараты на их основе (в том числе грудной сбор № 2) должна включать разделы, которые учитывают принцип «сквозной стандартизации» и методики, которые могут быть использованы в исследовательских лабораториях с различным материально-техническим обеспечением.

■ **Ключевые слова:** фитопектол № 2; *Pectorales species* № 2; *folia Tussilaginis farfarae*; *folia Plantaginis majoris*; *radices Glycyrrhizae*.

STANDARDIZATION OF PECTORAL SPECIES NO. 2: CURRENT STATE AND PROSPECTS

V.V. Chevidav¹, D.O. Bokov^{1,2}, I.A. Samylina¹

¹ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia;

² Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

To cite this article: Chevidav VV, Bokov DO, Samylina IA. Standardization of pectoral species No. 2: Current state and prospects. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):141–149. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.141-149>

Received: 14.07.2021

Revised: 19.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ Nowadays, diseases of the respiratory system are a common problem for national and global healthcare. The drugs of synthetic and natural origin, intended for the prevention and treatment of these diseases, are available on the pharmaceutical market. The latter are mainly represented by herbal medicinal products, among which mixture herbal products occupy a special place. Pectoral species No. 2 is a multicomponent herbal medicinal products used for diseases of the upper respiratory tract, it includes coltsfoot leaves (40%), plantain leaves (30%), and licorice roots (30%). It is produced

in the form of powder and is dispensed in packs and filter sachet. On the basis of information and analytical research, some approaches to the standardization of pectoral species No. 2 are developed in this study. Currently, the infusion is the main dosage form of pectoral species No. 2; water-soluble biologically active compounds are fully extracted by water and are responsible for the manifested pharmacological effects of pectoral species No. 2 (polysaccharides and triterpene compounds). The development of modern regulatory documentation for complex herbal preparations (mixture herbal products) should be carried out taking into account scientifically based data and harmonized requirements. Additional experimental studies are required to substantiate the indicators and standards of identity and good quality of pectoral species No. 2. Modern regulatory documentation for pharmaceutical substances of plant origin and mixture herbal products made of them (including pectoral species No. 2) should include sections that take into account the principle of “raw material-to-drug standardization” and methods that can be used in research laboratories with various material and technical support.

■ **Keywords:** *phytopectol* No. 2; *Pectorales species* No. 2; *folia Tussilaginis farfarae*; *folia Plantaginis majoris*; *radices Glycyrrhizae*.

Введение

Респираторные заболевания инфекционной и неинфекционной патологии составляют значительную долю в структуре заболеваемости и смертности. Согласно статическому отчету Всемирной организации здравоохранения за 2020 г., смертность во всем мире от хронических заболеваний составила 3,8 млн в 2016 г. [19]. За 2018 г. выявлено 291 243–645 832 случая смерти от респираторных заболеваний, связанных с сезонным гриппом [13]. В государственном докладе «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека приведены данные о заболеваемости населения Российской Федерации. Так, болезни органов дыхания занимают лидирующую позицию в общей заболеваемости в связи с вредным воздействием факторов среды обитания и составляют порядка 25 %. А острые инфекции верхних дыхательных путей множественной и неуточненной локализации составляют по-прежнему 90 % общего числа инфекционных заболеваний.

В 2020 г. произошло распространение новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 в масштабах пандемии. Помимо высокопатогенных для человека SARS-CoV и MERS-CoV, вызывающих инфекцию в нижних дыхательных путях, существуют коронавирусы, являющиеся причиной заболевания верхних дыхательных путей: HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 и HKU1, что актуализирует проблему поиска и подбора лекарственных препаратов этиологической или симптоматической направленности в терапии респираторных заболеваний [5].

На фармацевтическом рынке Российской Федерации препараты группы «R Дыхательная система» по АТС-классификации (Anatomical

Therapeutic Chemical classification system) занимают четвертое место в стоимостном объеме аптечных продаж лекарственных препаратов и первое место в доле от натурального объема продаж. Поскольку респираторные заболевания могут быть вызваны инфекционными агентами, стоит отметить тенденцию роста продаж группы «J Противомикробные препараты для системного использования» за октябрь 2020 г. по сравнению с сентябрем 2020 г. Такой рост обусловлен резко возросшим спросом на противовирусные лекарственные препараты Ингавирин (доля в группе 12,5 % в рублях), Арбидол (10,6 %) и Кагоцел (5,5 %), которые показаны при гриппе и других острых респираторно вирусных заболеваниях (ОРВИ) [1]. Эти показатели отражают высокий спрос на препараты этиологической и симптоматической направленности в терапии заболеваний органов верхних и нижних дыхательных путей, вызванных инфекционным и неинфекционным воздействием.

Ассортимент лекарственных средств представлен препаратами синтетического и природного происхождения. Среди вторых наиболее популярными считаются лекарственные растительные препараты (ЛРП), содержащие биологически активные соединения (БАС) лекарственного растительного сырья. Спрос на препараты растительного происхождения в профилактических и терапевтических целях можно объяснить относительной безопасностью, узким спектром противопоказаний и богатым опытом применения в исторической ретроспективе. Доля ЛРП от общего числа зарегистрированных лекарственных средств составляет примерно 25 %. Среди них наиболее распространены комбинированные препараты (8,54 %), которые выпускаются в твердых (таблетки, капсулы), жидких (настойки, экстракты, растворы) формах и в виде многокомпонентных ЛРП (сборы) [2].

Один из зарегистрированных многокомпонентных ЛРП, используемый в качестве отхаркивающего средства растительного происхождения, — грудной сбор № 2 (ГС № 2), (Фитопектол № 2, Pectorales species № 2).

Цель настоящего исследования — анализ существующей нормативной документации и научной литературы, необходимой для разработки показателей качества ГС № 2, с учетом современных гармонизированных требований к стандартизации комплексных ЛРП.

Материалы и методы

Для достижения поставленной цели был выполнен поиск необходимой информации по теме исследования в различных источниках научной литературы — электронных базах данных: PubMed, Google Scholar, Scopus, eLibrary; в нормативных документах.

Результаты и обсуждение

Компонентный состав биологически активных соединений грудного сбора № 2

Состав ГС № 2 представлен листьями мать-и-мачехи (*folia Tussilaginis farfarae*) (40 %), листьями подорожника большого (*folia Plantaginis majoris*) (30 %) и корнями солодки (*radices Glycyrrhizae*) (30 %). На рисунке представлены внешние признаки ГС № 2 в различных формах выпуска.

Данное лекарственное растительное сырье уже имеет богатый опыт применения в народной медицине в качестве средства, облегчающего откашливание, уменьшающего воспаление и выводящего трудноотделяемую макро-

ту. Макроскопические характеристики сбора могут быть описаны как смесь неоднородных частиц серовато-зеленого цвета с вкраплениями коричневого, желтого, зеленого цветов. Запах достаточно слабый или отсутствует, вкус у водного извлечения приторно-сладкий, с ощущением слизистости [3]. Несмотря на то что зарегистрированными формами выпуска ГС № 2 являются сбор-порошок в фильтр-пакетах и сбор измельченный в картонных пачках с внутренним пакетом, лекарственная форма, проявляющая отхаркивающее и противовоспалительное действие, — настой.

Основные соединения, характерные для компонентов ГС № 2, — полисахариды (ПСХ), представленные в основном слизями, глюкуроананами, галактанами, галактоуронанами, арабиногалактанами, рамногалактоуронанами, рамнанами, галакторамнанами, ксилогалактоуронанами, пектинами. Преобладающими моносахаридами ПСХ-комплекса являются рамноза (до 40 %), галактуроновая кислота (до 26,8 %), глюкоза (до 26,40 %), галактоза (до 23 %), арабиноза (до 15,23 %) [7].

Листья мать-и-мачехи также содержат сесквитерпены (оплопан, бисаболан, туссфарфарины А-Е, фарфароны А и D), тритерпены (арнидиол, фарадиол), флавоноиды (апигенин, лютеолин, лютеолин-7-О-гликозид, кемпферол-3-О-Д-глюкопиранозид, кемпферол-3-О-Д-галактопиранозид, кверцетин, гиперозид), сиригининовую кислоту, бензойную кислоту, дубильные вещества (галловая кислота), хромоны (туссилагофарол), азотосодержащие соединения (туссилагин, сенкиркин), в небольших количествах эфирные масла, стеролы, аминокислоты [21, 20].

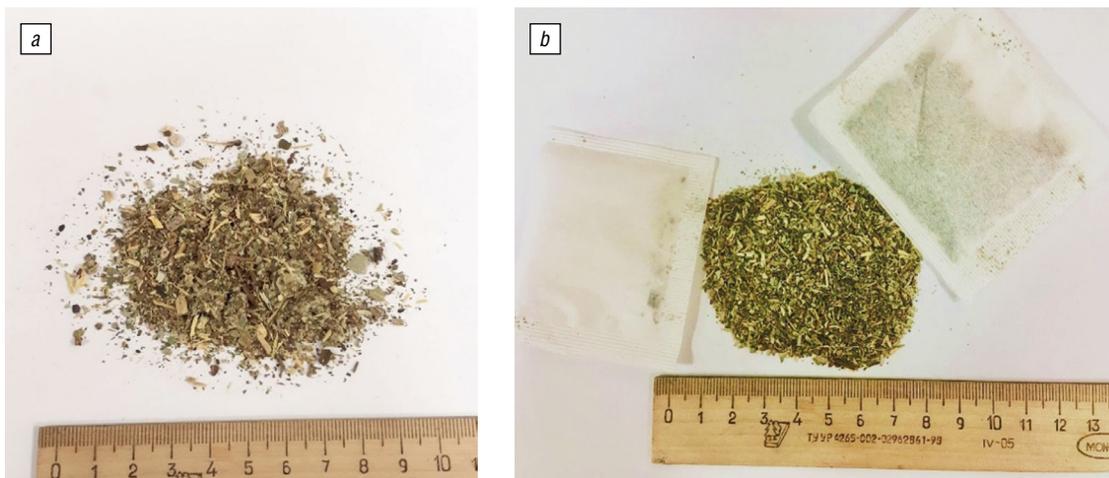


Рисунок. Грудной сбор № 2 в форме выпуска: *a* — сбор измельченный в картонных пачках с внутренним пакетом; *b* — сбор-порошок в фильтр-пакетах

Figure. Pectoral species No. 2 in the form of presentation: *a* — fragmented mixture of herbal product in cardboard cartons with the inner package; *b* — the powdered mixture of herbal product in filter sachet

В листьях подорожника большого обнаружены флавоноиды (лютеолин, апигенин, байкалеин, гиспидулин, плантагинин, скутелляреин, лютеолин-7-гликозид, гиспидулин-7-глюкуронид, лютеолин-7-диглюкозид, апигенин-7-глюкозид, непетин-7-глюкозид, 6-гидрокси-4'-метокси-7-галактозид, гомоплантагинин), азотсодержащие соединения (индикаин, плантагонин), терпеноиды и сапонины (лолиол, урсоловая кислота, олеаноловая кислота, ситостероловая кислота, 18 β -глицерритиновая кислота), производные кофейной кислоты (плантамайозид, вербаскозид), иридоидные гликозиды (аукубин, катапол, гардозид, мелиттозид), жирные кислоты (арахиновая, бегеновая), витамины (аскорбиновая кислота, β -каротин) [8, 14, 12, 15].

В химический состав корней солодки входят тритерпеновые сапонины (глицирризин, глицирризиновая кислота, 18- β -глицерретовая кислота, уралсапонин А и Б и др.), флаваноны (ликвиритигенин, ликвиритин и др.), халконы (изоликвиритигенин, изоликвиритин и др.), изофлавоны (формонетин, ликворицидин), птерокарпаны, куместаны, 3-арилкумарины, незначительное количество крахмала [18].

Фармакологические эффекты компонентов грудного сбора № 2

Многокомпонентность и богатый химический состав ГС № 2 обуславливает разнообразие фармакологических эффектов. Извлечения листьев подорожника обладают ранозаживляющим, противовоспалительным, анальгетическим, антиоксидантным, антиульцерогенным, иммуномодулирующим

эффектами [17]. Химические соединения в листьях мать-и-мачехи проявляют противовоспалительную, антимикробную, противовирусную, противоопухолевую, антидиабетическую, нейропротекторную, иммуномодулирующую, антиоксидантную активность [10]. Корни солодки оказывают противовоспалительное, противоопухолевое, противоаллергическое, противовоспалительное, иммуномодулирующее действие [11]. ГС № 2 применяют в качестве средства, обладающего отхаркивающим, а также противовоспалительным действием [6].

Стандартизация грудного сбора № 2

В настоящее время проводятся исследования по стандартизации растительных лекарственных сборов, разрабатываются соответствующие фармакопейные статьи для Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV), а также совершенствуется нормативная документация предприятий-производителей. Подтверждение подлинности проводится на основании разделов: «Внешние признаки», «Микроскопические признаки», «Определение основных групп биологически активных веществ» [качественные реакции, тонкослойная хроматография (ТСХ)]. Доброкачественность устанавливается на основании проведенных испытаний по статьям: «Влажность», «Зола общая», «Зола, не растворимая в хлористоводородной кислоте», «Измельченность сырья», «Посторонние примеси», показатели безопасности («Тяжелые металлы», «Радионуклиды», «Остаточные количества пестицидов», «Микробиологическая чистота»),

Таблица 1 / Table 1

Характеристика некоторых разделов фармакопейных статей Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания на компоненты грудного сбора № 2

Characteristics of some sections of the PM SPRF XIV in terms of pectoral species No. 2 components

| Раздел | Объект | | |
|----------------------------|---------------------------------------|--|--|
| | листья мать-и-мачехи | листья подорожника | корни солодки |
| Качественные реакции | Полисахариды — осаднение со спиртом | Полисахариды — осаднение со спиртом | — |
| | Галактуроновая кислота — с карбазолом | Галактуроновая кислота — с карбазолом | |
| Тонкослойная хроматография | Флавоноиды (стандарт — рутин) | — | Флавоноиды + сапонины (стандарты — 18 β -глицирризиновая кислота, кверцетин) |
| Количественное определение | Полисахариды — спектрофотометрия | Полисахариды — гравиметрия | Глицирризиновая кислота — спектрофотометрия |
| | | Экстрактивные вещества, извлекаемые спиртом 70 % — гравиметрия | |

«Количественное определение». В настоящей работе мы охарактеризуем и обсудим разделы, которые требуют дополнения и уточнения с учетом современных гармонизированных требований к фармакопейному анализу [4].

Все компоненты, которые входят в ГС № 2, — фармакопейное лекарственное растительное средство, подходы к стандартизации которого формировались в течение продолжительного времени и опираются на обоснованные с научной точки зрения данные. В табл. 1 приведены указанные разделы для компонентов ГС № 2 и их краткая характеристика.

Следует отметить, что одним из основных требований является наличие валидированной методики определения содержания основной/основных групп БАС. В ГС № 2 к таким группам относятся ПСХ и тритерпеновые соединения. То есть должны быть приведены методики оценки содержания конкретных групп гидрофильных БАС, которые отвечают за фармакотерапевтический эффект водного извлечения — настоя.

Для подтверждения подлинности ГС № 2 важную роль играет микроскопический анализ. В разделе «Микроскопические признаки» должны быть указаны размеры и частота встречаемости анатомо-диагностических признаков согласно требованиям ОФС.1.5.3.0003.15 «Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» ГФ РФ XIV [4].

В раздел «Определение основных групп биологически активных веществ» целесообразно включать подтверждение присутствия качественными реакциями и идентификацию методом ТСХ фенольных соединений (флавоноидов и гидроксикоричных кислот), тритерпеновых соединений (глицирризиновой кислоты). Для детектирования флавоноидов методом ТСХ необходимо использование, помимо распространенного стандартного образца рутина, также лютеолина/лютеолин-7-гликозида, апигенина, кверцетина, ликвиритина, которые входят в состав компонентов ГС № 2 и являются маркерными соединениями; для гидроксикоричных кислот — стандарт хлорогеновой и кофейной кислот. В фитохимическом анализе профиль простых углеводов в составе ПСХ после кислотного обычно определяют методом ТСХ [6]. Для детектирования полисахаридов сбора методом ТСХ может быть использована методика, описанная в проекте фармакопейной статьи «Подорожника большого листа, экстракт сухой». Стандартными образцами служат растворы глюкозы, галактозы, ксилозы,

рамнозы, арабинозы или галактуронозой/глюкуронозой кислоты. ТСХ-методика детектирования маркерных соединений из группы тритерпеновых сапонинов в корнях солодки приведена в ФС.2.5.0040.15 «Солодки корни» ГФ РФ XIV [4].

Качественные реакции в разделе «Определение основных групп биологически активных веществ» могут служить для подтверждения присутствия нескольких групп БАС. Помимо реакции пенообразования на сапонины представляется целесообразным также дополнить раздел методиками качественного химического подтверждения основных групп БАС – ПСХ (осаждение 96 % спиртом, «карбазоловая» реакция), флавоноидов (с $AlCl_3$). Реакция осаждения 96 % спиртом и цветная реакция с карбазолом в условиях гидролитического расщепления серной кислотой концентрированной могут быть использованы в качестве подтверждающих наличие ПСХ-комплексов и галактуронозой кислоты. Пробоподготовка и методики проведения реакций приведены в ФС.2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листья» ГФ РФ XIV.

Содержание экстрактивных веществ служит важным показателем, позволяющим оценить качество фармацевтических субстанций растительного происхождения (ФСРП), служащих для получения суммарных препаратов. В разделе «Испытания» ГС № 2 следует приводить определение ЭВ, извлекаемых водой (не менее 25 %) согласно общей фармакопейной статье «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Этот показатель регламентирует содержание всех групп веществ, как БАС, так и балластных, и необходим, прежде всего, для контроля качества ФСРП, используемых для изготовления экстрактов и настоек. Разработка технологии получения экстракта на основе ГС № 2 — актуальная задача, поскольку данная ФСРП перспективна для получения современных лекарственных форм (однодозовый пакет-саше, шипучие таблетки и гранулы).

При выборе метода количественного определения (КО) БАС следует принимать во внимание принцип сквозной стандартизации. Как уже было отмечено ранее, ГС № 2 является перспективной «композицией» для получения экстракционных лекарственных форм. Таким образом, метод анализа (в том числе конкретные методики) для фармакопейного контроля качества в связке «лекарственное растительное средство – ЛРП для получения настоя (и сам настой) – ЛРП, полученный

на основе экстракта из ГС № 2» должен быть одним и тем же с незначительной модификацией пробоподготовки, связанной с особенностью матрицы образца. Поскольку главными группами гидрофильных соединений, обуславливающих основную отхаркивающий эффект ГС № 2, являются ПСХ и тритерпеновые соединения, то определение данных групп БАС становится необходимым условием для надлежащего контроля качества ЛРП. Для определения глицирризиновой кислоты очевидно применение фармакопейной спектрофотометрической методики (СФМ), описанной в ФС.2.5.0040.15 «Солодки корни» ГФ РФ XIV, а также разработанный нами вариант высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и УФ-спектроскопии [9]. В качестве методов КО ПСХ в ГС № 2 и его настое могут быть предложены гравиметрический (ГМ), СФМ, хроматографический.

ГМ-метод КО ПСХ предполагает концентрирование 96 % спиртом ПСХ с последующим фильтрованием и высушиванием фильтра с осадком до постоянной массы на воздухе и при 100–105 °С. Несмотря на то что данный метод КО ПСХ применяют уже на протяжении многих десятилетий, актуальность его для стандартизации не уменьшается, и он находит применение в современных исследованиях [16]. ГМ-методика проведения КО ПСХ описана в ФС.2.5.0032.15 «Подорожника большого листа» ГФ РФ XIV. К достоинствам данного метода относятся доступность, простота и достаточно высокая точность. Важно отметить, что в этом методе определяются именно высокомолекулярные нерастворимые в спирте соединения — ПСХ. К недостатками этого метода можно отнести длительность проведения анализа и трудоемкость.

В основе СФМ-метода КО ПСХ лежит определение оптической плотности окрашенных продуктов, получаемых при окислительно-восстановительном взаимодействии восстанавливающих моносахаров с пикриновой кислотой, антроном или орцином. Методики определения представлены в ОФС.1.2.3.0019.15 «Определение сахаров спектрофотометрическим методом». В ФС 2.5.0027.15 «Мать-и-мачехи обыкновенной листа» на один из компонентов сбора приведено количественное определение СФМ-методом свободных восстанавливающих сахаров и продуктов гидролитического расщепления полисахаридов с пикриновой кислотой [4]. В качестве стандартных образцов могут быть предложены растворы восстанавливающих сахаров глюкозы, галактозы, арабинозы, рамнозы. К достоинствам СФМ-метода можно отнести

высокую чувствительность, высокую селективность и быстроту проведения.

Возможны к рассмотрению варианты, включающие элементы двух методов: выделение суммы ПСХ, описанное в гравиметрических методиках (осаждение спиртами высоких концентраций) с последующим гидролизом и оценкой содержания выделившихся сахаров.

К хроматографическим методам, прежде всего, следует отнести ВЭЖХ с различными детекторами: рефрактометрическим (РД), амперометрическим и др. Перспективным для фармакопейного анализа для определения ПСХ после гидролиза можно считать ВЭЖХ-РД; к достоинствам метода можно отнести высокую специфичность и селективность, быстроту, высокую чувствительность, возможность многократного использования колонок. Недостаток метода — использование дорогого и сложного оборудования.

Особое внимание при выборе следует уделить показателям селективности методик. Так, ГМ обладает высокой селективностью по отношению к ПСХ, определяется исключительно эта группа БАС (сумма ПСХ). Использование только СФМ-методик в текущем варианте, изложенном в фармакопейной статье, позволяет определять сумму свободных углеводов и ПСХ. Свободные углеводы вносят вклад в этот показатель, хотя не являются БАС. Использование «гибридной» методики, включающей элементы пробоподготовки ГМ и КО СФМ, позволяет избавиться от влияния этих сопутствующих соединений на итоговый показатель. Но, к сожалению, даже этот способ не позволяет отделить крахмал, который как сопутствующее соединение содержится в небольшом количестве в корнях солодки (не обладает фармакологической активностью ПСХ-комплекса ГС № 2). Тем не менее этот вариант следует считать наиболее приемлемым для фармакопейного анализа ПСХ. Сравнение методов представлено в табл. 2.

Исходя из вышесказанного, в современных условиях фармакопейного анализа для российских лабораторий в нормативной документации обязательно должна быть приведена методика оценки показателя «содержание полисахаридов не менее» (без восстанавливающих свободных сахаров, не обладающих фармакологической активностью), которая не требует дорогостоящего оборудования, но обладает всеми преимуществами современных методик; такими свойствами обладает «гибридная» методика, включающая элементы пробоподготовки ГМ и КО СФМ. Обязательно должна быть также включена методика, подразумевающая использование

Таблица 2 / Table 2

Характеристика методов количественного определения полисахаридов, применимых для контроля качества грудного сбора № 2

Characteristics of methods for the quantitative determination of polysaccharides, used for quality control pectoral species No. 2

| Характеристика | Метод | | | |
|-------------------------|----------------------|--|---|---|
| | гравиметрия | спектрофотометрия | спектрофотометрия + гравиметрия | высокоэффективная жидкостная хроматография |
| Содержание, не менее | Полисахариды | Сумма полисахаридов и свободных восстанавливающих сахаров в пересчете на глюкозу | Сумма полисахаридов в пересчете на глюкозу (сумма восстанавливающих сахаров после гидролиза полисахаридов в пересчете на глюкозу) | Содержание и профиль свободных углеводов до гидролиза, содержание и профиль углеводов после гидролиза |
| Селективность | Относительно высокая | Низкая | Высокая | Высокая |
| Трудоемкость выполнения | Высокая | Низкая | Низкая | Средняя |
| Стоимость оборудования | Очень низкая | Низкая | Низкая | Высокая |

инструментальных физико-химических методов анализа. Например, целесообразна разработка ВЭЖХ-методики для испытательных лабораторий, чья приборная база позволяет выполнять подобный анализ; в случае применения ВЭЖХ-методики отпадает необходимость проведения ТСХ-анализа.

Заключение

1. В разделе «Микроскопические признаки» необходимо указать метрологические характеристики анатомо-диагностических признаков сбора.
2. Для раздела «Определение основных группы биологически активных веществ» внести определение состава сахаров ПСХ, глицирризиновой кислоты, флавоноидов, гидроксикоричных кислот методом ТСХ, а также качественные реакции на ПСХ, сапонины, флавоноиды.
3. В качестве основных методик КО ПСХ для раздела «Испытания» следует рассматривать «гибридную» методику, сочетающую в себе пробоподготовку методом гравиметрии и КО СФМ, а также современную методику ВЭЖХ-РД с целью совершенствования стандартизации; для определения тритерпеновых сапонинов — фармакопейную СФМ КО глицирризиновой кислоты, а также альтернативный вариант ВЭЖХ-определения с УФ-детектированием.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Аналитический отчет. Фармацевтический рынок России: октябрь 2020 [Электронный ресурс] // DSM Group. Режим доступа: <https://dsm.ru/marketing/free-information/analytic-reports/>.
2. Бойко Н.Н., Бондарев А.В., Жиликова Е.Т. и др. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации // Научные результаты биомедицинских исследований. 2017. Т. 3, № 4. С. 1–9. DOI: 10.18413/2313-8955-2017-3-4-30-38
3. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru>.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. М., 2018.
5. Супотницкий М.В. Новый коронавирус SARS-CoV-2 в аспекте глобальной эпидемиологии коронавирусных инфекций // Вестник войск РХБ защиты. 2020. Т. 4, №1. С. 32–65. DOI: 10.35825/2587-5728-2020-4-1-32-65
6. Тринеева О.В., Сливкин А.И. Определения простых сахаров в лекарственном растительном сырье методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) // Химия растительного сырья. 2020. №. 1. С. 215–222. DOI: 10.14258/jcrpm.2020015122
7. Чевидадзе В.В., Боков Д.О., Самылина И.А. Углеводный состав полисахаридов грудного сбора № 2 // Фармация. 2021. Т. 70, № 2. С. 11–17. DOI: 10.29296/25419218-2021-02-02
8. Adom M.B., Taher M., Mutalabisin M.F. et al. Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major* // Biomed. Pharmacother. 2017. Vol. 96. P. 348–360. DOI: 10.1016/j.biopha. 2017.09.152

9. Brovchenko B.V., Ermakova V.A., Bokov D.O. et al. Validation of an HPLC-UV procedure for determining the glycyrrhizic acid content in licorice roots // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020. Vol. 53, No. 12. P. 1168–1173. DOI: 10.1007/s11094-020-02142-w
10. Chen S., Dong L., Quan H. et al. A review of the ethnobotanical value, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of *Tussilago farfara* L. (coltsfoot) // *J. Ethnopharmacol.* 2021. Vol. 267. P. 113478. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113478
11. Gao X., Wang W., Wei S., Li W. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza radix* and its bioactive compounds // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2009. Vol. 34, No. 21. P. 2695–2700. (In Chinese)
12. Haddadian K., Haddadian K., Zahmatkash M. et al. A review of *Plantago* plant // *Indian Journal of Traditional Knowledge*. 2014. Vol. 13, No. 4. P. 681–685.
13. Iuliano A.D., Roguski K.M., Chang H.H. et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study // *Lancet*. 2018. Vol. 391, No. 10127. P. 1285–1300. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33293-2
14. Najafian Y., Hamed S.S., Farshchi M.K., Feyzabadi Z. *Plantago major* in Traditional Persian Medicine and modern phytotherapy: a narrative review // *Electron. Physician*. 2018. Vol. 10, No. 2. P. 6390–6399. DOI: 10.19082/6390
15. Nazarizadeh A., Mikaili P., Moloudizargari M. et al. Therapeutic uses and pharmacological properties of *Plantago major* L. and its active constituents // *J. Basic Appl. Sci. Res.* 2013. Vol. 3, No. 9. P. 212–221.
16. Никифоров Л.А., Кривошеков С.В., Коломиец Н.Э. и др. Разработка параметров стандартизации сырья ряски малой (*Lemna minor* L.) // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10, № 1. С. 74–81. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-74-81
17. Samuelsen A.B. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review // *J. Ethnopharmacol.* 2000. Vol. 71, No. 1–2. P. 1–21. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00212-9
18. Shen X.P., Xiao P.G., Liu C.X. Research and application of *Radix Glycyrrhizae* // *Asian J. Pharmacodyn. Pharmacokinet.* 2007. Vol. 7, No. 3. P. 181–200.
19. World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals // WHO. 2020.
20. Xue S.Y., Li Z.Y. et al. Metabolic fingerprinting investigation of *Tussilago farfara* L. by GC–MS and multivariate data analysis // *Biochemical Systematics and Ecology*. 2012. Vol. 41. P. 6–12. DOI: 10.1016/j.bse.2011.11.003
21. Zhi H.J., Qin X.M., Sun H.F. et al. Metabolic fingerprinting of *Tussilago farfara* L. using 1H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis // *Phytochem. Anal.* 2012. Vol. 23, No. 5. P. 492–501. DOI: 10.1002/pca.2346
2. Boyko NN, Bondarev AV, Zhilyakova ET, et al. Fito-preparaty, analiz farmatsevticheskogo rynka Rossiyskoy Federatsii. *Nauchnye rezultaty biomedical'skikh issledovaniy*. 2017;3(4):1–9. (In Russ.). DOI: 10.18413/2313-8955-2017-3-4-30-38
3. Gosudarstvennyy reestr lekarstvennykh sredstv [Internet]. Available from: <https://grls.rosminzdrav.ru>. (In Russ.)
4. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV ed. Moscow; 2018. (In Russ.)
5. Supotnitskiy MV. Novel coronavirus SARS-COV-2 in the context of global epidemiology of coronavirus infections. *Journal of NBC Protection Corps*. 2020;4(1):32–65. (In Russ.). DOI: 10.35825/2587-5728-2020-4-1-32-65
6. Trineeva OV, Slivkin AI. Determination of simple sugars in medicinal plant materials by the method of high-performance thin-layer chromatography (for example, the fruits of *Sea buckthorn* L. and *Nettle leaves* L.). *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. 2020;(1):215–222. (In Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020015122
7. Chevidae VV, Bokov DO, Samylina IA. Carbohydrate composition of polysaccharides in pectorales species No. 2. *Farmatsiya*. 2021;70(2):11–17. (In Russ.). DOI: 10.29296/25419218-2021-02-02
8. Adom MB, Taher M, Mutalabisin MF, et al. Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. *Biomed Pharmacother*. 2017;96:348–360. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.09.152
9. Brovchenko BV, Ermakova VA, Bokov DO, et al. Validation of an HPLC-UV procedure for determining the glycyrrhizic acid content in licorice roots. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;53(12):1168–1173. DOI: 10.1007/s11094-020-02142-w
10. Chen S, Dong L, Quan H, et al. A review of the ethnobotanical value, phytochemistry, pharmacology, toxicity and quality control of *Tussilago farfara* L. (coltsfoot). *J Ethnopharmacol*. 2021;267:113478. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113478
11. Gao X, Wang W, Wei S, Li W. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza radix* and its bioactive compounds. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2009;34(21):2695–2700. (In Chinese)
12. Haddadian K, Haddadian K, Zahmatkash M, et al. A review of *Plantago* plant. *Indian journal of traditional knowledge*. 2014;13(4):681–685.
13. Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet*. 2018;391(10127):1285–1300. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33293-2
14. Najafian Y, Hamed SS, Farshchi MK, Feyzabadi Z. *Plantago major* in Traditional Persian Medicine and modern phytotherapy: a narrative review. *Electron Physician*. 2018;10(2):6390–6399. DOI: 10.19082/6390
15. Nazarizadeh A, Mikaili P, Moloudizargari M, et al. Therapeutic uses and pharmacological properties of *Plantago major* L. and its active constituents. *J Basic Appl Sci Res*. 2013;3(9):212–221.
16. Nikiforov LN, Krivoshchekov SV, Kolomiets NE, et al. Development of parameters for standardization of

References

1. Analiticheskiy otchet. Farmatsevticheskiy rynek Rossii: oktyabr' 2020 [Internet]. *DSM Group*. Available from: <https://dsm.ru/marketing/free-information/analytic-reports>. (In Russ.)

- duckweed (*Lemna Minor* L.) raw material. *Drug development and registration*. 2021;10(1):74–81. (In Russ.). DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-1-74-81
17. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol*. 2000;71(1–2):1–21. DOI: 10.1016/S0378-8741(00)00212-9
 18. Shen XP, Xiao PG, Liu CX. Research and application of *Radix Glycyrrhizae*. *Asian J Pharmacodyn Pharmacokin*. 2007;7(3):181–200.
 19. World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. *WHO*. 2020.
 20. Xue SY, Li ZY, et al. Metabolic fingerprinting investigation of *Tussilago farfara* L. by GC–MS and multivariate data analysis. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2012;41:6–12. DOI: 10.1016/j.bse.2011.11.003
 21. Zhi HJ, Qin XM, Sun HF, et al. Metabolic fingerprinting of *Tussilago farfara* L. using ¹H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis. *Phytochem Anal*. 2012;23(5):492–501. DOI: 10.1002/pca.2346

▪ Информация об авторах

Владимир Викторович Чевидяев — аспирант кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина. ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия. E-mail: vovchev@rambler.ru

Дмитрий Олегович Боков — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина. ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия. E-mail: bokov_d_o@staff.sechenov.ru

Ирина Александровна Самылина — доктор фармацевтических наук, чл.-корр. РАН, профессор кафедры фармацевтического естествознания Института фармации им. А.П. Нелюбина. ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия. E-mail: samylina_i_a@staff.sechenov.ru

▪ Information about the authors

Vladimir V. Chevidayev — Postgraduate student, Department of Pharmaceutical Sciences, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia. E-mail: vovchev@rambler.ru

Dmitry O. Bokov — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmaceutical Sciences, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia. E-mail: bokov_d_o@staff.sechenov.ru

Irina A. Samylina — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Corresponding Member RAS, Professor, Department of Pharmaceutical Sciences, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia. E-mail: samylina_i_a@staff.sechenov.ru

**ОСОБЕННОСТИ ПОТРЕБЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ,
ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ, В РОЗНИЧНОМ СЕКТОРЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО РЫНКА****П.Р. Блинкова, И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, Т.К. Рязанова**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Блинкова П.Р., Петрухина И.К., Лебедев П.А., Рязанова Т.К. Особенности потребления лекарственных препаратов, применяемых для лечения пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в розничном секторе фармацевтического рынка // *Аспирантский вестник Поволжья*. 2021. № 5–6. С. 150–160. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.150-160>

Поступила: 10.08.2021

Одобрена: 27.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ Изучены особенности потребления лекарственных препаратов, назначаемых для лечения пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями, в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области за период с 2015 по 2020 г. Установлено, что в структуре розничных продаж на долю однокомпонентных сердечно-сосудистых препаратов приходится 82,6 %, доля фиксированных комбинаций составляет 17,4 %. За период 2015–2020 гг. максимальные объемы потребления (по количеству отпущенных упаковок) отмечены у ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) (24,6 %) и β -адреноблокаторов (24,1 %), при этом на долю двух данных групп совокупно приходится около 50 % розничных продаж (в упаковках) анализируемой номенклатуры сердечно-сосудистых препаратов. Абсолютными лидерами по количеству реализованных упаковок в 2020 г. стали препараты с международными непатентованными наименованиями: бисопролол, эналаприл, индапамид, амлодипин, моксонидин. В розничном секторе фармацевтического рынка по группе комбинированных сердечно-сосудистых препаратов наиболее востребованы комбинации ингибитор АПФ + диуретик (34,4 %) и блокатор рецепторов ангиотензина II + диуретик (35,0 %). На долю фиксированных комбинаций ингибитор АПФ + блокатор кальциевых каналов, блокатор рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов и β -адреноблокатор + диуретик соответственно приходится 4,4, 6,6 и 15,7 % объемов продаж. В общей структуре реализации подгруппы комбинированных препаратов доля многокомпонентных фиксированных комбинаций сердечно-сосудистых препаратов не превышает 3 %. Потребность населения в данных препаратах ничтожно мала — в общей структуре объемов продаж анализируемой группы она составляет не более 1 %. Составлены рейтинги наиболее востребованных в розничном секторе фармацевтического рынка сердечно-сосудистых препаратов. На основе расчета средних показателей потребления сердечно-сосудистых препаратов в пересчете на одну аптеку выявлена тенденция изменения потребительских предпочтений при выборе лекарственных препаратов анализируемой группы.

■ **Ключевые слова:** лекарственные препараты; лекарственное обеспечение населения; препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

**FEATURES OF DRUG UTILIZATION FOR THE TREATMENT OF PATIENTS
WITH CARDIOVASCULAR DISEASES: RETAIL SECTOR OF THE PHARMACEUTICAL MARKET****P.R. Blinkova, I.K. Petrukhina, P.A. Lebedev, T.K. Ryazanova**

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Blinkova PR, Petrukhina IK, Lebedev PA, Ryazanova TK. Features of drug utilization for the treatment of patients with cardiovascular diseases: Retail sector of the pharmaceutical market. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):150–160. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.150-160>

Received: 10.08.2021

Revised: 27.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ The article studies the main features of drug utilization, prescribed for the treatment of patients with cardiovascular diseases, in the retail sector of the pharmaceutical market of the Samara region over the period of 2015–2020. It was found that in the retail sale, the ratio of single-component medicines prescribed for the treatment of cardiovascular

diseases was 82.6%, the ratio of fixed combinations was 17.4%. Through 2015–2020 the maximum consumption (the number of sold packages) affected ACE inhibitors (24.6%) and β -blockers (24.1%), while the ratio of these two groups together accounted for about 50% of sales volume (in packages) of the analyzed nomenclature of medications used in the treatment of cardiovascular diseases. The absolute leaders in terms of the number of sold packages in 2020 turned out to be drugs with international non-proprietary names: bisoprolol, enalapril, indapamide, amlodipine, moxonidine. In the retail sector of pharmacies, in the group of fixed-dose combinations ACE inhibitor + diuretic (34.4%) and Angiotensin II receptor blocker + diuretic (35.0%) appeared to be the most demanded combinations. The fixed combinations ACE inhibitor + calcium channel blocker, angiotensin II receptor blocker + calcium channel blocker and β -blocker + diuretic accounted for 4.4%, 6.6% and 15.7% of sales volumes respectively. In the overall sales of the subgroup of fixed-dose combinations of medications used in the treatment of cardiovascular diseases, the share of multicomponent fixed-dose combinations failed to exceed 3%. The demand of the population for these drugs is negligible, it is not more than 1%. The rating indices of the most demanded medications used in the treatment of cardiovascular disease in the retail sector of the pharmaceutical market have been made. Having calculated the average consumption of medications in the treatment of cardiovascular disease in terms of one pharmacy, we have revealed the tendency of changes in consumer preferences when choosing medications.

■ **Keywords:** medications; medication supply for the population; medications for the treatment of cardiovascular diseases.

Обоснование

По данным Всемирной организации здравоохранения, в настоящее время во всем мире болезни системы кровообращения входят в число лидирующих причин смертности населения. За последние 20 лет количество смертей от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) возросло более чем на 2 млн и к 2019 г. приблизилось к отметке 9 млн. В разных странах мира на долю заболеваний сердечно-сосудистой системы сегодня приходится 16 % всех случаев смертности [6].

В Российской Федерации количество зарегистрированных случаев ССЗ в период с 2014 по 2019 г. в среднем составило около 17 тыс. в год, однако в 2020 г. на фоне стремительного распространения коронавирусной инфекции данный показатель резко увеличился. Так, по данным Минздрава России, только за первые 10 мес. 2020 г. смертность от болезней системы кровообращения возросла на 6,6 % (по сравнению с аналогичным периодом 2019 г.) [5].

Данную тенденцию подтверждает и статистика Росстата: по сравнению с 2019-м в 2020 г. смертность от ССЗ в нашей стране возросла на 11,6 % [2].

Для предотвращения роста заболеваемости и смертности населения от ССЗ с 2018 г. в нашей стране реализуется федеральный проект «Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями». Одна из ключевых задач данного проекта — профилактика ССЗ и, в частности, своевременное выявление факторов риска развития сердечно-сосудистых осложнений, повышение качества оказания медицинской помощи больным в соответствии с клиническими рекомендациями, а также совершен-

ствование лекарственного обеспечения данной категории пациентов. В этой связи весьма актуально проведение исследований по анализу потребления пациентами лекарственных препаратов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний (СС-препараты) [1, 3, 4].

Цель исследования — изучение особенностей потребления лекарственных препаратов (ЛП), применяемых для лечения ССЗ, в розничном секторе фармацевтического рынка (на примере Самарской области).

Материалы и методы

При проведении исследования использованы методы структурного, сравнительного, логического, прогностического, ретроспективного, графического, маркетингового анализов.

Для анализа использована база аптечных продаж ЛП в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области за период с 2015 по 2020 г. Исследование проведено на примере крупной федеральной аптечной сети, доля которой по количеству аптечных организаций в структуре регионального фармацевтического рынка составляет 14,7 %.

База аптечных продаж ЛП включает следующие данные: международные непатентованные наименования (МНН) ЛП, торговые наименования ЛП, форма выпуска, дозировка и количество доз в упаковке, объемы реализации в натуральном и денежном измерителях (по количеству упаковок и сумме реализации в рублях). Для проведения сравнительного анализа в соответствии с фармакотерапевтическими группами по анатомо-терапевтическо-химической классификации номенклатура ЛП была разделена на подгруппы.

Выбор Самарской области в качестве объекта исследования обусловлен рядом факторов:

- 1) высокой степенью насыщенности региона аптечными организациями (по данным территориального управления Росздравнадзора по Самарской области, по состоянию на 01.01.2021 в субъекте Российской Федерации представлено 1939 аптечных организаций);
- 2) высокой степенью конкуренции в розничном секторе фармацевтического рынка (на одну аптечную организацию региона в среднем приходится 1647 человек);
- 3) высокой численностью постоянно проживающего населения (12-е место в Российской Федерации, 11 % общего количества жителей Приволжского федерального округа);
- 4) наличием в анализируемом регионе развитой структуры медицинских организаций различных профилей и уровней.

Статистическую обработку исходных данных осуществляли с помощью методов описательной статистики, с применением статистического программного пакета IBM SPSS Advanced Statistics 24.0 (IBM, США). Статистические закономерности отмечались в обобщенных данных. Для обобщения результатов выделяли группировки, проводили расчет сводных показателей в общей структуре и по выделенным группам. Показатель нормальности распределения внутригрупповых количественных признаков рассчитывали с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для всех количественных признаков проводили оценку средних арифметических показателей, а также рассчитывали медианное значение. Дескриптивные статистики в тексте представлены как $M \pm SD$, где M — среднее арифметическое, SD — стандартное отклонение при нормальном распределении признака.

Репрезентативность выборки рассчитывали на основе оценки количества покупок ЛП, назначаемых для лечения ССЗ, по формуле:

$$m = 2\sqrt{n},$$

где m — полученная численность выборки, n — численность генеральной совокупности.

Под генеральной совокупностью в проводимом исследовании мы подразумевали численность населения Самарской области (в 2020 г. — 3 179 532 человек).

Таким образом, рассчитанная численность выборки для обеспечения ее репрезентативности должна составлять не менее 3,566 тыс. покупок лекарственных препаратов, назначаемых при заболеваниях сердечно-сосудистой

системы. В 2015–2020 гг. в анализируемой аптечной сети ежегодно совершалось от 28 до 40 млн покупок, что подтверждает репрезентативность полученных данных, то есть соответствие характеристик выборки характеристикам генеральной совокупности.

Результаты и их обсуждение

Анализ показал, что в структуре реализации ЛП (в натуральном выражении — в упаковках), назначаемых для лечения ССЗ, на долю монопрепаратов приходится 82,6 %. Соответственно, доля комбинированных препаратов составляет 17,4 %.

В общей структуре отпущенных за период 2015–2020 гг. упаковок наибольшие объемы реализации отмечены в двух фармакотерапевтических группах: у ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) — 24,6 % и β -адреноблокаторов — 24,1 % (табл. 1). В частности, на долю двух данных групп совокупно приходится около 50 % розничных продаж (в упаковках) анализируемой номенклатуры СС-препаратов. Следующие позиции в рейтинге наиболее востребованных препаратов занимают блокаторы кальциевых каналов (10,0 %), статины (8,2 %) и блокаторы рецепторов ангиотензина II (6,8 %).

В подгруппе монопрепаратов наибольшие объемы реализации по количеству упаковок также отмечены у двух фармакотерапевтических групп: у ингибиторов АПФ и β -адреноблокаторов (см. рисунок). Данная тенденция наглядно прослеживается за весь анализируемый временной период с 2015 по 2020 г.

В структуре розничных продаж подгруппы комбинированных препаратов лидирующие позиции занимают комплексы ингибитор АПФ + диуретик (34,4 %) и блокатор рецепторов ангиотензина II + диуретик (35,0 %). На долю фиксированных комбинаций ингибитор АПФ + блокатор кальциевых каналов, блокатор рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов и β -адреноблокатор + диуретик соответственно приходится 4,4, 6,6 и 15,7 %. Стоит заметить, что комбинация блокатор кальциевых каналов + статины в розничном секторе фармацевтического рынка за период 2015–2020 гг. была не востребована.

Что касается многокомпонентных фиксированных комплексов СС-препаратов, то доля их реализации в общей структуре продаж подгруппы комбинированных препаратов составляет 2,8 %. При анализе объемов потребления многокомпонентных фиксированных

Таблица 1 / Table 1

Структура потребления лекарственных препаратов, применяемых для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области за период 2015–2020 гг.

The structure of drug consumption for the treatment of cardiovascular diseases in the retail sector of the pharmaceutical market of the Samara Region through 2015–2020

| Название фармакотерапевтической группы / международные непатентованные наименования | Доля объема реализации (в упаковках), % | | | | | | |
|--|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | среднее значение (SD) в 2015–2020 гг. | годы | | | | | |
| | | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
| Монопрепараты | | | | | | | |
| Тиазидовые диуретики | 5,25 (2,31) | 2,63 | 2,16 | 6,85 | 7,78 | 6,05 | 6,00 |
| гидрохлоротиазид | 37,72 (33,20) | 72,02 | 87,55 | 22,68 | 17,50 | 16,80 | 9,79 |
| индапамид | 64,65 (29,20) | 27,98 | 26,67 | 77,32 | 82,50 | 83,20 | 90,21 |
| Ингибиторы АПФ | 24,56 (3,33) | 30,09 | 24,65 | 19,96 | 23,20 | 25,72 | 23,76 |
| эналаприл | 59,03 (5,86) | 65,41 | 59,56 | 53,34 | 50,96 | 60,24 | 64,66 |
| эналаприлат | 0,01 (0,01) | 0,01 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 0,00 | 0,00 |
| лизиноприл | 3,40 (3,17) | 0,60 | 0,76 | 1,14 | 7,69 | 6,87 | 3,34 |
| периндоприл | 1,25 (3,76) | 5,40 | 8,73 | 12,32 | 10,91 | 15,23 | 14,88 |
| рамиприл | 1,34 (0,28) | 1,54 | 1,35 | 1,72 | 1,38 | 1,07 | 0,99 |
| фозиноприл | 1,78 (0,45) | 1,94 | 2,15 | 2,33 | 1,73 | 1,17 | 1,34 |
| хинаприл | 0,60 (0,25) | 0,84 | 0,82 | 0,78 | 0,47 | 0,32 | 0,34 |
| каптоприл | 22,32 (6,15) | 23,98 | 26,23 | 27,99 | 26,58 | 14,90 | 14,23 |
| зофеноприл | 0,28 (0,07) | 0,28 | 0,37 | 0,36 | 0,27 | 0,20 | 0,20 |
| Блокаторы рецепторов ангиотензина II | 6,75 (0,43) | 6,47 | 6,63 | 6,37 | 6,77 | 7,57 | 6,68 |
| лозартан | 62,07 (16,89) | 88,01 | 74,80 | 61,88 | 52,42 | 54,02 | 41,26 |
| валсартан | 22,18 (7,50) | 8,43 | 19,45 | 24,40 | 29,66 | 24,84 | 26,29 |
| кандесартан | 4,64 (3,14) | 0,10 | 1,73 | 4,96 | 6,30 | 6,29 | 8,45 |
| телмисартан | 7,59 (5,30) | 2,14 | 1,99 | 6,17 | 9,09 | 10,35 | 15,81 |
| азилсартан | н/п | – | – | – | – | 2,33 | 5,97 |
| ирбесартан | 0,82 (0,21) | 0,50 | 0,80 | 1,13 | 0,92 | 0,76 | 0,79 |
| олмесартан | 1,32 (0,28) | 0,80 | 1,22 | 1,46 | 1,61 | 1,40 | 1,43 |
| Блокаторы кальциевых каналов | 10,02 (1,70) | 9,02 | 10,96 | 12,97 | 9,88 | 8,54 | 8,75 |
| амлодипин | 52,28 (6,11) | 45,68 | 43,78 | 56,73 | 53,13 | 56,19 | 58,18 |
| левамлодипин | 0,72 (0,34) | 1,22 | 1,01 | 0,58 | 0,66 | 0,59 | 0,28 |
| верапамил | 7,49 (2,31) | 5,05 | 11,57 | 8,38 | 7,52 | 6,46 | 5,97 |
| дилтиазем | 1,49 (0,30) | 1,80 | 1,82 | 1,42 | 1,54 | 1,25 | 1,08 |
| нитрендипин | 0,29 (0,29) | 0,00 | 0,01 | 0,13 | 0,33 | 0,57 | 0,71 |
| лерканидипин | 8,00 (3,79) | 4,65 | 4,63 | 5,08 | 8,80 | 11,69 | 13,15 |
| нифедипин | 29,30 (8,61) | 41,60 | 37,19 | 27,68 | 28,00 | 22,08 | 19,25 |
| фелодипин | 0,86 (0,73) | – | – | – | 0,03 | 1,16 | 1,39 |
| β-Адреноблокаторы | 24,06 (1,09) | 24,06 | 24,31 | 25,01 | 24,28 | 21,94 | 24,74 |
| бетаксоллол | 2,59 (1,01) | 3,83 | 3,58 | 2,77 | 2,24 | 1,89 | 1,21 |
| бисопролол | 66,35 (4,68) | 59,94 | 61,60 | 66,53 | 68,87 | 69,29 | 71,89 |

| Название фармакотерапевтической группы / международные непатентованные наименования | Доля объема реализации (в упаковках), % | | | | | | |
|--|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | среднее значение (SD) в 2015–2020 гг. | годы | | | | | |
| | | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
| метопролол | 19,95 (5,92) | 27,74 | 24,93 | 21,53 | 18,19 | 15,28 | 12,04 |
| небиволол | 2,87 (0,87) | 1,81 | 1,87 | 3,01 | 3,94 | 3,59 | 3,01 |
| карведилол | 2,19 (0,73) | 2,69 | 2,92 | 1,48 | 1,12 | 2,27 | 2,66 |
| атенолол | 0,74 (0,74) | 0,00 | 0,00 | 0,05 | 0,17 | 1,57 | 1,15 |
| пропранолол | н/п | – | – | – | – | – | 2,26 |
| соталол | 5,18 (0,78) | 3,99 | 5,10 | 4,62 | 5,47 | 6,11 | 5,79 |
| Статины | 8,22 (0,77) | 7,02 | 9,10 | 8,73 | 7,90 | 8,70 | 7,86 |
| аторвастатин | 61,13 (4,98) | 63,77 | 63,54 | 63,25 | 65,34 | 58,90 | 51,96 |
| питавастатин | 0,36 (0,06) | – | – | 0,27 | 0,40 | 0,38 | 0,37 |
| розувастатин | 35,49 (2,12) | 35,08 | 35,67 | 36,22 | 33,96 | 32,92 | 39,07 |
| симвастатин | 3,15 (3,15) | 1,15 | 0,79 | 0,26 | 0,30 | 7,80 | 8,60 |
| Прочие монопрепараты | 3,76 (2,22) | 1,41 | 1,78 | 2,37 | 4,58 | 5,59 | 6,81 |
| фенофибрат | 2,43 (0,39) | – | – | – | – | 2,70 | 2,15 |
| эзетимиб | 1,66 (0,70) | 2,79 | 0,87 | 1,46 | 1,22 | 1,44 | 2,17 |
| моксонидин | 85,43 (11,49) | 63,36 | 86,62 | 92,98 | 83,82 | 92,64 | 93,17 |
| доксазозин | 10,83 (9,81) | 28,18 | 11,72 | 5,02 | 14,58 | 3,03 | 2,45 |
| рилменидин | 1,28 (2,17) | 5,68 | 0,79 | 0,55 | 0,38 | 0,20 | 0,06 |
| Фиксированные двойные комбинации | | | | | | | |
| Ингибитор АПФ + диуретик | 6,34 (0,53) | 6,97 | 6,80 | 6,02 | 5,87 | 6,65 | 5,72 |
| каптоприл + гидрохлортиазид | 5,36 (2,83) | 9,62 | 7,45 | 5,83 | 4,24 | 2,50 | 2,54 |
| лизиноприл + гидрохлортиазид | 1,64 (0,54) | 2,34 | 2,23 | 1,69 | 1,26 | 1,19 | 1,11 |
| периндоприл + индапамид | 31,73 (14,24) | 13,96 | 20,23 | 27,11 | 32,67 | 47,11 | 49,27 |
| рампиприл + гидрохлортиазид | 5,11 (3,18) | 0,18 | 2,51 | 7,48 | 8,62 | 5,56 | 6,31 |
| хинаприл + гидрохлортиазид | 2,62 (1,10) | 4,17 | 3,06 | 2,79 | 3,01 | 1,32 | 1,37 |
| эналаприл + гидрохлортиазид | 46,23 (8,33) | 56,95 | 53,67 | 47,81 | 44,76 | 38,67 | 35,53 |
| эналаприл + индапамид | 6,98 (4,17) | 12,79 | 10,86 | 7,29 | 5,41 | 3,03 | 2,49 |
| лизиноприл + индапамид | 0,55 (0,51) | – | – | – | 0,04 | 0,56 | 1,05 |
| рамиприл + индапамид | н/п | – | – | – | – | 0,07 | 0,34 |
| Ингибитор АПФ + блокатор кальциевых каналов | 0,82 (0,14) | 0,60 | 0,83 | 0,95 | 0,98 | 0,82 | 0,73 |
| амлодипин + лизиноприл | 42,62 (14,95) | 69,91 | 49,07 | 38,75 | 36,16 | 30,47 | 31,34 |
| амлодипин + периндоприл | 48,42 (12,00) | 27,79 | 43,41 | 49,23 | 50,37 | 58,72 | 61,00 |
| амлодипин + рамиприл | 4,57 (2,38) | 0,49 | 2,98 | 5,55 | 6,77 | 6,16 | 5,47 |
| трандолаприл + верапамил | 1,62 (1,01) | 0,77 | 0,95 | 3,02 | 2,78 | 0,95 | 1,24 |
| эналаприл + нитрендипин | 2,56 (1,45) | 1,05 | 3,60 | 3,45 | 3,76 | 3,10 | 0,42 |
| эналаприл + лерканидипин | 0,11 (0,06) | – | – | – | 0,16 | 0,60 | 0,52 |
| Ингибитор АПФ + β-адреноблокатор | н/п | – | – | – | 0,05 | 0,12 | 0,16 |
| бисопролол + периндоприл | н/п | – | – | – | 100,00 | 100,00 | 100,00 |

| Название фармакотерапевтической группы / международные непатентованные наименования | Доля объема реализации (в упаковках), % | | | | | | |
|--|---|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | среднее значение (SD) в 2015–2020 гг. | годы | | | | | |
| | | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
| Блокатор рецепторов ангиотензина II + диуретик | 6,45 (0,93) | 7,00 | 7,93 | 6,26 | 5,22 | 5,96 | 6,32 |
| азилсартан + хлорталидон | н/п | – | – | – | – | 8,56 | 10,85 |
| валсартан + гидрохлоротиазид | 23,32 (5,33) | 28,63 | 24,01 | 26,54 | 27,22 | 17,63 | 15,87 |
| ирбесартан + гидрохлоротиазид | 0,58 (0,21) | 0,39 | 0,31 | 0,57 | 0,92 | 0,62 | 0,64 |
| кандесартан цилексетил + + гидрохлоротиазид | 0,63 (0,60) | 0,00 | 0,01 | 0,56 | 1,39 | 0,52 | 1,27 |
| лозартан + гидрохлоротиазид | 67,76 (6,86) | 70,47 | 75,09 | 71,61 | 69,60 | 63,94 | 55,87 |
| олмесартана медоксомил + + гидрохлоротиазид | 0,51 (0,19) | 0,19 | 0,41 | 0,51 | 0,61 | 0,75 | 0,58 |
| эпросартан + гидрохлоротиазид | 0,17 (0,09) | 0,33 | 0,17 | 0,21 | 0,17 | 0,07 | 0,09 |
| телмисартан + гидрохлоротиазид | 3,81 (6,26) | – | – | 0,01 | 0,09 | 7,93 | 14,84 |
| Блокатор рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов | 1,21 (0,46) | 0,55 | 0,70 | 1,41 | 1,63 | 1,48 | 1,48 |
| валсартан + амлодипин | 49,33 (14,55) | 39,03 | 24,56 | 53,31 | 60,10 | 59,98 | 59,00 |
| лозартан + амлодипин | 38,31 (13,70) | 52,52 | 58,03 | 36,40 | 28,47 | 27,75 | 26,69 |
| олмесартана медоксомил + амлодипин | 1,61 (1,13) | – | – | 0,22 | 1,30 | 2,04 | 2,89 |
| телмисартан + амлодипин | 7,93 (4,21) | 7,92 | 16,25 | 6,90 | 5,43 | 4,96 | 6,13 |
| ирбесартан + амлодипин | 3,36 (2,10) | 0,53 | 1,16 | 3,18 | 4,71 | 5,27 | 5,29 |
| β-Адреноблокатор + диуретик | 2,90 (1,26) | 4,74 | 3,93 | 3,05 | 2,41 | 1,76 | 1,52 |
| атенолол + хлорталидон | 96,45 (1,40) | 98,50 | 97,46 | 96,96 | 95,46 | 95,05 | 95,25 |
| бисопролол + гидрохлоротиазид | 3,55 (1,40) | 1,50 | 2,54 | 3,04 | 4,54 | 4,95 | 4,75 |
| β-Адреноблокатор + блокатор кальциевых каналов | 0,10 (0,03) | 0,13 | 0,11 | 0,14 | 0,08 | 0,08 | 0,07 |
| бисопролол + амлодипин | 96,45 (1,40) | 87,41 | 93,52 | 95,72 | 93,84 | 98,80 | 99,28 |
| фелодипин + метопролол | 5,24 (4,34) | 12,59 | 6,48 | 4,28 | 6,16 | 1,20 | 0,72 |
| Блокатор кальциевых каналов + + диуретик | 0,08 (0,05) | – | – | 0,01 | 0,06 | 0,11 | 0,12 |
| амлодипин + индапамид | 100,0 (0,00) | – | – | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| Ингибитор АПФ + диуретик | 6,34 (0,53) | 6,97 | 6,80 | 6,02 | 5,87 | 6,65 | 5,72 |
| каптоприл + гидрохлоротиазид | 5,36 (2,83) | 9,62 | 7,45 | 5,83 | 4,24 | 2,50 | 2,54 |
| лизиноприл + гидрохлоротиазид | 1,64 (0,54) | 2,34 | 2,23 | 1,69 | 1,26 | 1,19 | 1,11 |
| периндоприл + индапамид | 31,73 (14,24) | 13,96 | 20,23 | 27,11 | 32,67 | 47,11 | 49,27 |
| рамиприл + гидрохлоротиазид | 5,11 (3,18) | 0,18 | 2,51 | 7,48 | 8,62 | 5,56 | 6,31 |
| хинаприл + гидрохлоротиазид | 2,62 (1,10) | 4,17 | 3,06 | 2,79 | 3,01 | 1,32 | 1,37 |
| эналаприл + гидрохлоротиазид | 46,23 (8,33) | 56,95 | 53,67 | 47,81 | 44,76 | 38,67 | 35,53 |
| эналаприл + индапамид | 6,98 (4,17) | 12,79 | 10,86 | 7,29 | 5,41 | 3,03 | 2,49 |
| лизиноприл + индапамид | 0,55 (0,51) | – | – | – | 0,04 | 0,56 | 1,05 |

| Название фармакотерапевтической группы / международные непатентованные наименования | Доля объема реализации (в упаковках), % | | | | | | |
|--|---|------|------|------|------|------|------|
| | среднее значение (SD) в 2015–2020 гг. | годы | | | | | |
| | | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
| Фиксированные тройные и более комбинации | | | | | | | |
| Амлодипин + индапамид + периндоприл | 0,27 (0,34) | 0,00 | 0,01 | 0,07 | 0,18 | 0,51 | 0,84 |
| Амлодипин + индапамид + лизиноприл | н/п | – | – | – | – | 0,02 | 0,05 |
| Амлодипин + валсартан + + гидрохлоротиазид | 0,14 (0,11) | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,12 | 0,26 | 0,30 |
| Амлодипин + лизиноприл + + розувастатин | 0,09 (0,07) | 0,00 | 0,02 | 0,13 | 0,17 | 0,11 | 0,12 |
| Индапамид + периндоприл + + розувастатин | н/п | – | – | – | – | – | 0,01 |

Примечание. Для каждой фармакотерапевтической группы указаны доли от общего объема реализации в упаковках, для международных непатентованных наименований приведена доля в общей структуре объема реализации в разрезе фармакотерапевтической группы. АПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

Note. The share of overall disposal (the number of sold packs) for each pharmacotherapeutic group are presented. As for non-propriety names of medicines the ratio in the general volume of disposal for each pharmacotherapeutic group are given.

комбинаций в общей структуре продаж группы СС-препаратов установлено, что потребность у населения в данных препаратах ничтожно мала (не более 1 % в общей структуре объемов продаж анализируемой группы).

Анализ позволил выявить особенности потребления ЛП внутри фармакотерапевтических групп. Например, в наиболее востребованной у конечных потребителей группе ингибиторов АПФ лидируют препараты с МНН эналаприл (59,0 % в общей структуре продаж этой фармакотерапевтической группы) и каптоприл (22,3 %). В группе β-адреноблокаторов лидируют препараты с МНН бисопролол (66,4 %) и метопролол

(20,0 %). В группе «Тиазидовые диуретики» наиболее востребованы препараты индапамида. Лозартан и валсартан — лидеры продаж в структуре группы «Блокаторы рецепторов ангиотензина II». В группе «Блокаторы кальциевых каналов» наиболее потребляемыми оказались препараты амлодипина и нифедипина. В группе статинов преимущественно востребованы два препарата — аторвастатин (около 61 % в структуре продаж данной группы) и розувастатин (около 35 %).

В подгруппе комбинированных препаратов наиболее востребованы следующие фиксированные сочетания: периндоприл + индапамид, эналаприл + гидрохлоротиазид,



Рисунок. Структура розничной реализации монопрепаратов, назначаемых для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, за период с 2015 по 2020 г. (общая структура реализации препаратов в розничном секторе по количеству упаковок)

Figure. Structure of retail sales of monopreparations prescribed for the treatment of CVD, over the period 2015-2020 (general structure of drug disposal in the retail depending on the number of sold packs)

Таблица 2 / Table 2

Сравнительный анализ реализации сердечно-сосудистых препаратов на одну аптечную организацию в 2015 и 2020 гг. (в упаковках)

Comparative analysis of the sales of cardiovascular medicines per one pharmacy through 2015-2020 (the number of packages)

| Название фармакотерапевтической группы | Средний объем реализации на одну аптечную организацию в 2015 и 2020 гг., количество упаковок | | |
|---|--|----------------|---|
| | 2015 | 2020 | изменение в 2020 г. по отношению к 2015 г., % |
| Тиазидовые диуретики | 107,31 | 428,04 | 398,9 |
| Ингибиторы АПФ | 1228,50 | 1694,17 | 137,9 |
| Блокаторы рецепторов ангиотензина II | 264,10 | 476,54 | 180,4 |
| Блокаторы кальциевых каналов | 368,47 | 623,91 | 169,3 |
| β -Адреноблокаторы | 982,48 | 1764,07 | 179,6 |
| Статины | 286,62 | 560,80 | 195,7 |
| Ингибитор АПФ + диуретик | 284,48 | 407,58 | 143,3 |
| Ингибитор АПФ + блокатор кальциевых каналов | 24,60 | 52,18 | 212,1 |
| Ингибитор АПФ + β -адреноблокатор | 0,00 | 11,32 | н/п |
| Блокатор рецепторов ангиотензина II + диуретик | 285,77 | 450,58 | 157,7 |
| Блокатор рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов | 22,48 | 105,49 | 469,3 |
| β -Адреноблокатор + диуретик | 193,54 | 108,65 | 56,1 |
| β -Адреноблокатор + блокатор кальциевых каналов | 5,14 | 5,33 | 103,7 |
| Блокатор кальциевых каналов + диуретик | 0,00 | 8,82 | н/п |
| Блокатор кальциевых каналов + статин | 0,00 | 0,00 | н/п |
| Тройные фиксированные комбинации | 0,00 | 0,00 | н/п |
| Иные комбинации | 7,49 | 3,32 | 44,3 |
| ВСЕГО | 4083,24 | 7130,33 | 174,6 |

Примечание. АПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

Note. АПФ — angiotensin converting enzyme.

амлодипин + периндоприл, амлодипин + лизиноприл, лозартан + гидрохлортиазид, валсартан + амлодипин, ателолол + хлорталидон, бисопролол + амлодипин и триамтерен + гидрохлортиазид.

Учитывая, что в анализируемой аптечной сети за период с 2015 по 2020 г. отмечен рост числа аптек, на следующем этапе нами были проанализированы средние показатели потребления СС-препаратов в пересчете на одну аптеку (табл. 2).

По всем анализируемым фармакотерапевтическим группам в розничном секторе фармацевтического рынка отмечено увеличение объемов потребления препаратов (в натуральном выражении). Наиболее заметный прирост (в пересчете на одну аптеку) отмечен по группе тиазидовых диуретиков: по сравнению с 2015-м в 2020 г. потребление препаратов данной группы воз-

росло в 3,98 раза. Отмечен заметный рост и по фиксированным двухкомпонентным комбинациям: блокатор рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов — практически 5-кратный прирост объемов продаж; ингибитор АПФ + блокатор кальциевых каналов — количество реализованных упаковок возросло в 2,1 раза. Сразу по нескольким группам зафиксирован практически двукратный рост объемов аптечных продаж (блокаторы рецепторов ангиотензина II, блокаторы кальциевых каналов, β -адреноблокаторы, статины). Рост розничных продаж в интервале от 1,4 до 1,6 раза отмечен по группам ингибитор АПФ + диуретик и блокатор рецепторов ангиотензина II + диуретик. Двукратное сокращение объемов потребления СС-препаратов произошло только в одной фиксированной комбинации — β -адреноблокатор + диуретик.

В результате сравнительного анализа объемов реализации за период с 2015 по 2020 г. был выявлен ряд тенденций при реализации отдельных МНН.

В подгруппе тиазидовых диуретиков отмечено заметное перераспределение покупательских предпочтений. Так, начиная с 2015 г., заметно выросли объемы потребления препаратов индапамида. Примечательно, что данный рост произошел на фоне заметного сокращения продаж препаратов с МНН гидрохлортиазид. На наш взгляд, увеличение объемов потребления индапамида обусловлено расширением номенклатуры ЛП данной подгруппы. В частности, количество торговых наименований индапамида за период с 2015 по 2020 г. увеличилось за счет позиций Арифон ретард (производитель Servier) и Индапамид ретард (производители Merck и ОЗОН). Кроме того, отмечен заметный рост объемов продаж препарата Индапамид отечественного производителя «АКРИХИН» (по сравнению с импортными аналогами среднерыночная цена данного препарата в розничном секторе фармацевтического рынка ниже в 2–2,5 раза).

В подгруппе ингибиторов АПФ конечные потребители стали чаще приобретать препараты с МНН эналаприл и периндоприл. Если в 2015 г. одна аптека анализируемой сети в среднем отпускала 803 упаковки эналаприла в год, то в 2020 г. этот показатель увеличился до 1095 упаковок. Для периндоприла соответствующие значения составили 66 и 252 упаковки (увеличение в 3,8 раза).

В подгруппе β -адреноблокаторов аналогичная ситуация с препаратами с МНН бисопролол: показатель 2015 г. на уровне 589 упаковок к 2020 г. вырос до 1268 упаковок в год, при этом его доля в общем объеме реализации этой фармакотерапевтической группы за этот период возросла с 60,0 до 71,9 %.

В подгруппе блокаторов рецепторов ангиотензина II отмечено перераспределение потребительских предпочтений. Сократилась доля общего объема реализации препаратов лозартана (с 88,0 % в 2015-м до 41,3 % в 2020 г.), показатель «Средний объем реализации на одну аптечную организацию» для этих препаратов снизился с 234 до 177 упаковок в год. В то же время увеличилась доля ЛП с МНН кандесартан, валсартан и телмисартан (в 84,5, 3,1 и 7,4 раза соответственно) (см. табл. 1), при этом показатель «Средний объем реализации на 1 аптечную организацию» увеличился в 143,8, 5,6 и 13,3 раза соответственно.

В подгруппе блокаторов кальциевых каналов отмечено снижение доли общего объема реализации фармакотерапевтической группы препаратов с МНН нифедипин и увеличение спроса на ЛП с МНН алодипин и лерканидипин (см. табл. 1). Средний объем реализации на одну аптечную организацию в период с 2015 по 2020 г. для препаратов нифедипина сократился с 153 до 120 упаковок в год, для препаратов амлодипина и лерканидипина этот показатель возрос с 168 до 363 упаковок и с 17 до 82 упаковок соответственно.

Таблица 3 / Table 3

TOP-10 наиболее востребованных сердечно-сосудистых препаратов в розничном секторе фармацевтического рынка по итогам 2020 г. (в разрезе международных непатентованных наименований)

TOP-10 of the most popular cardiovascular medicines in the retail sector of the pharmaceutical market at the end of 2020 (in terms of international non-proprietary name)

| Позиция в рейтинге | Международные непатентованные наименования | Среднее количество реализованных упаковок на одну аптеку в 2020 г. |
|--------------------|--|--|
| 1 | Бисопролол | 1268 |
| 2 | Эналаприл | 1095 |
| 3 | Индапамид | 386 |
| 4 | Амлодипин | 363 |
| 5 | Моксонидин | 312 |
| 6 | Аторвастатин | 291 |
| 7–8 | Периндоприл | 252 |
| 7–8 | Лозартан + гидрохлортиазид | 252 |
| 9 | Каптоприл | 241 |
| 10 | Розувастатин | 219 |

В подгруппе статинов отмечено увеличение потребления в пересчете на одну аптечную организацию ЛП с МНН аторвастатин (с 183 упаковок в 2015-м до 291 упаковки в 2020 г.) и розувастатин (с 101 до 219 упаковок соответственно).

Увеличение средних объемов реализации (в пересчете на одну аптеку) отмечено и по отдельным МНН, представленным в виде фиксированных комбинаций. Например, если по комбинации лозартан + гидрохлортиазид в 2015 г. была реализована 201 упаковка, то к 2020 г. данный показатель вырос на 25 % — до 252 упаковок.

При анализе розничных продаж нами составлен рейтинг наиболее популярных в 2020 г. СС-препаратов у посетителей аптечных организаций (табл. 3).

Таким образом, в 2020 г. наиболее часто посетители аптечных организаций анализируемой сети приобретали препараты с МНН бисопролол и эналаприл.

Выводы

1. Изучены особенности потребления лекарственных препаратов, назначаемых для лечения ССЗ, в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской области за период 2015–2020 гг.
2. Установлено, что в структуре розничных продаж на долю однокомпонентных СС-препаратов приходится 82,6 %, доля фиксированных комбинаций составляет 17,4 %.
3. За период 2015–2020 гг. максимальные объемы потребления (по количеству отпущенных упаковок) отмечены у ингибиторов АПФ (24,6 %) и β -адреноблокаторов (24,1 %), при этом на долю двух данных групп совокупно приходится около 50 % розничных продаж (в упаковках) анализируемой номенклатуры СС-препаратов. Абсолютными лидерами по количеству реализованных упаковок в 2020 г. являются ЛП с МНН бисопролол, эналаприл, индапамид, амлодипин, моксонидин.
4. В розничном секторе фармацевтического рынка по группе комбинированных СС-препаратов наиболее востребованы комбинации ингибитор АПФ + диуретик (34,4 %) и блокатор рецепторов ангиотензина II + диуретик (35,0 %). На долю фиксированных комбинаций ингибитор АПФ + блокатор кальциевых каналов, блокатор рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов и β -адреноблокатор + диуретик соответственно приходится 4,4, 6,6 и 15,7 % объемов продаж.

5. В общей структуре реализации подгруппы комбинированных препаратов доля многокомпонентных фиксированных комбинаций СС-препаратов (ингибитор АПФ + диуретик + блокатор кальциевых каналов, блокатор кальциевых каналов + блокатор ангиотензиновых рецепторов II + диуретик, блокатор кальциевых каналов + ингибитор АПФ + статин, диуретик + ингибитор АПФ + статин) не превышает 3 %. Потребность населения в данных препаратах ничтожно мала — в общей структуре объемов продаж анализируемой группы она составляет не более 1 %.
6. Составлены рейтинги наиболее востребованных в розничном секторе фармацевтического рынка СС-препаратов. В группе ингибиторов АПФ лидируют препараты с МНН эналаприл (59,0 %) и каптоприл (22,3 %). В группе β -адреноблокаторов наиболее часто приобретают препараты с МНН бисопролол (66,4 %) и метопролол (20,0 %). В подгруппе комбинированных препаратов максимальные объемы продаж имеют следующие фиксированные комбинации: периндоприл + индапамид, эналаприл + гидрохлортиазид, амлодипин + периндоприл, амлодипин + лизиноприл, лозартан + гидрохлортиазид, валсартан + амлодипин, ателолол + хлорталидон, бисопролол + амлодипин и триамтерен + гидрохлортиазид.
7. На основе расчета средних показателей потребления СС-препаратов в пересчете на одну аптеку выявлена тенденция изменения потребительских предпочтений при выборе лекарственных препаратов анализируемой группы.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями в РФ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/046/710/original/FP>. Дата обращения: 09.08.2021.
2. Отчет о распространенности заболеваний сердечно-сосудистой системы в РФ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/search?> Дата обращения: 09.08.2021.
3. Постановление Правительства РФ от 26 декабря 2017 г. № 1640 «Об утверждении государственной программы Российской Федерации «Развитие здравоохранения»».
4. Постановление Правительства РФ от 31 марта 2021 г. № 512 «О внесении изменений в государ-

- ственную программу Российской Федерации “Развитие здравоохранения”».
- Распространенность заболеваний сердечно-сосудистой системы в РФ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://minzdrav.gov.ru/news>. Дата обращения: 09.08.2021.
 - Статистика заболеваемости и смертности от болезней системы кровообращения [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>. Дата обращения: 09.08.2021.

References

- Bor'ba s serdechno-sosudistymi zabolovanijami v RF [Internet]. Available from: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/046/710/original/FP_ Accessed: 09.08.2021. (In Russ.)
- Otchet o rasprostranennosti zabolovanij serdechno-sosudistoj sistemy v RF [Internet]. Available from: <https://rosstat.gov.ru/search?> Accessed: 09.08.2021. (In Russ.)
- Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 26 dekabrya 2017 g. No. 1640 Ob utverzhdenii gosudarstvennoj programmy Rossijskoj Federacii “Razvitie zdavoohranenija”. (In Russ.)
- Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 31 marta 2021 g. No. 512 O vnesenii izmenenij v gosudarstvennuju programmu Rossijskoj Federacii “Razvitie zdavoohranenija”. (In Russ.)
- Rasprostranennost' zabolovanij serdechno-sosudistoj sistemy v RF [Internet]. Available from: <https://minzdrav.gov.ru/news>. Accessed: 09.08.2021. (In Russ.)
- Statistika zaboлеваemosti i smertnosti ot boleznej sistemy krovoobraшhenija [Internet]. Available from: <https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019>. Accessed: 09.08.2021. (In Russ.)

▪ Информация об авторах

Полина Романовна Блинкова — аспирант кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

Ирина Константиновна Петрухина — доктор фармацевтических наук, доцент, заместитель директора Института фармации, заведующая кафедрой управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: i.k.petruchina@samsmu.ru

Петр Алексеевич Лебедев — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии ИПО. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: p.a.lebedev@samsmu.ru

Татьяна Константиновна Рязанова — кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

▪ Information about the authors

Polina R. Blinkova — Postgraduate student, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

Irina K. Petrukina — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Dean of the Faculty of Pharmacy, Head of the Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: i.k.petruchina@samsmu.ru

Petr A. Lebedev — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Therapy, Institute of Postgraduate Education. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: p.a.lebedev@samsmu.ru

Tatyana K. Ryazanova — Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

АНАЛИЗ АССОРТИМЕНТА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И ОБЪЕМА ИХ ПОТРЕБЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ СТАРШИХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП С ДИАГНОЗОМ COVID-19

Е.П. Гладунова, Я.Е. Ширококов, Е.А. Бородулина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Гладунова Е.П., Ширококов Я.Е., Бородулина Е.А. Анализ ассортимента лекарственных препаратов и объема их потребления у пациентов старших возрастных групп с диагнозом COVID-19 // *Аспирантский вестник Поволжья*. 2021. № 5–6. С. 161–166. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.161-166>

Поступила: 10.08.2021

Одобрена: 27.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** Для выявления особенностей лечения коронавирусной инфекции (COVID-19) у лиц старшего трудоспособного возраста проведен анализ ассортимента лекарственных препаратов и схем лечения, используемых в «ковид-госпиталях» Самары.

Цель исследования — изучение лекарственных препаратов, применяемых в фармакотерапии лиц старшей возрастной группы на примере госпиталей Самарской области для выявления основных препаратов, формирования ассортимента и прогнозирования объемов их потребления.

Материалы и методы. В ходе исследования был проведен ретроспективный анализ 218 историй болезни пациентов с коронавирусной инфекцией, проходивших лечение в медицинских организациях Самары в мае – июле 2020 г.

Результаты. Определены основные симптомы, сопутствующие заболевания, средняя длительность симптомов у пациентов до поступления в стационар, а также основные лекарственные препараты, используемые для лечения инфекции.

Заключение. Анализ используемых лекарственных препаратов и схем лечения коронавирусной инфекции должен быть положен в основу формирования оптимального ассортимента лекарственных препаратов, прогнозирования потребности в них на основе научно обоснованных фармакоэкономических подходов.

▪ **Ключевые слова:** COVID-19; коронавирусная инфекция; внебольничная пневмония; лекарственное обеспечение.

ANALYSIS OF DRUGS ASSORTMENT AND THEIR CONSUMPTION IN OLDER AGE PATIENTS DIAGNOSED WITH COVID-19

E.P. Gladunova, Ya.E. Shirobokov, E.A. Borodulina

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Gladunova EP, Shirobokov YaE, Borodulina EA. Analysis of drugs assortment and their consumption in older age patients diagnosed with COVID-19. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):161–166. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.161-166>

Received: 10.08.2021

Revised: 27.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** To identify the features of coronavirus infection (COVID-19) treatment in older working age individuals the analysis of the drugs assortment and treatment schemes used in COVID hospitals in Samara was carried out.

AIM: The purpose of the research was to study the drugs used to treat senior patients in the hospitals of Samara Region, to identify the main drugs, to form a range of medical preparations and to predict the volume of their consumption.

MATERIALS AND METHODS: The study carried out a retrospective analysis of 218 cases of patients with coronavirus infection treated in Samara medical institutions from May till July 2020.

RESULTS: The main symptoms, comorbidities, the average duration of symptom manifestation prior to admission in both groups of patients, as well as the essential drugs used to treat the infection have been identified.

CONCLUSIONS: The analysis of the studied drugs used for the treatment of coronavirus infections should form the basis for the formation of an optimal range of drugs, forecasting the need for drugs in the light of scientific pharmaco-economic approaches.

▪ **Keywords:** COVID-19; coronavirus infection; community-acquired pneumonia; drug provision.

30 января 2020 г. Всемирная организация здравоохранения признала вспышку коронавирусной инфекции в Китае чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющую международное значение. В последующем новая коронавирусная инфекция (COVID-19) быстро распространилась по всему миру, затронув более 200 стран. Данный вирус характеризуется высокой контагиозностью, быстрым развитием двусторонних пневмоний, сопровождающихся дыхательной недостаточностью и острым респираторным дистресс-синдромом. При этом тяжелые случаи инфекции и летальные исходы наблюдаются в основном в возрасте 60 лет и старше [1].

В ряде исследований указано, что пожилой возраст является важным фактором риска [2–4].

В 16 странах показатели смертности среди лиц в возрасте 65 лет и старше были значительно выше, чем среди молодых людей [5].

В настоящее время сведения об эпидемиологии, клинических особенностях, профилактике и лечении этого заболевания ограничены [1]. С этой целью выпущено несколько версий рекомендаций с корректировкой тактики лечения. Но до настоящего времени остаются открытыми вопросы о выборе рациональной фармакотерапии, отсутствуют установленные стандарты лечения. В связи с этим трудно прогнозировать и формировать ассортимент лекарственных препаратов (ЛП) для пациентов старших возрастных групп с диагнозом COVID-19.

Цель исследования — изучение ЛП, применяемых в фармакотерапии лиц старшей возрастной группы на примере госпиталей Самарской области для выявления основных ЛП, формирования ассортимента и прогнозирования объемов их потребления.

Материалы и методы

В ходе исследования был проведен ретроспективный анализ 218 историй болезней пациентов с коронавирусной инфекцией, проходивших лечение в медицинских организациях Самары в мае – июле 2020 г.

В ходе исследований были использованы ретроспективный, логический, графический, аналитический методы. Статистическую

обработку полученных данных проводили с использованием прикладного программного пакета Statistica 10.0. В зависимости от цели исследования был использован метод расчета описательных статистик: средняя величина и стандартное отклонение ($M \pm SD$), границы 95 % доверительного интервала (ДИ). Для выявления различий в группах пациентов были использованы параметрические (критерий Пирсона) и непараметрические (критерий Манна – Уитни) методы анализа. Уровень значимости при проведении статистического анализа — $p < 0,05$.

В основу методологии исследования положены принципы доступности и качества медицинской помощи, а также организации оказания медицинской помощи в соответствии с Федеральным законом от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».

Результаты и их обсуждение

Проведенный анализ демографических характеристик пациентов позволил смоделировать региональный портрет пациента.

Среди всей когорты пациентов 73,85 % (первая группа, $n = 96$) проходили лечение в инфекционных отделениях (ИО), тогда как 26,15 % лиц (вторая группа, $n = 34$) были переведены в отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). И в ИО, и в ОРИТ наибольшая доля была представлена пациентами-женщинами. Их доля составила 76,04 и 58,82 % соответственно. Средний возраст пациентов ИО составил $65,15 \pm 6,92$ года, а пациентов ОРИТ — $70,53 \pm 8,78$ года. Разница в возрасте была статистически значимой ($p = 0,000531$, критерий Манна – Уитни $U = 978,5$).

При анализе симптомов, предшествующих госпитализации, получены следующие данные. У пациентов обеих групп зарегистрированы кашель сухой (53,12 против 58,8 %) или с трудноотделяемой мокротой (37,5 против 32,35 %), одышка (68,75 против 97,05 %), слабость (95,83 против 100 %), ощущение сдавленности в грудной клетке (11,45 против 8,82 %), потеря обоняния (21,86 против 23,53 %) и насморк (22,92 против 8,82 %).

Все пациенты были с хроническими сопутствующими заболеваниями, среди кото-

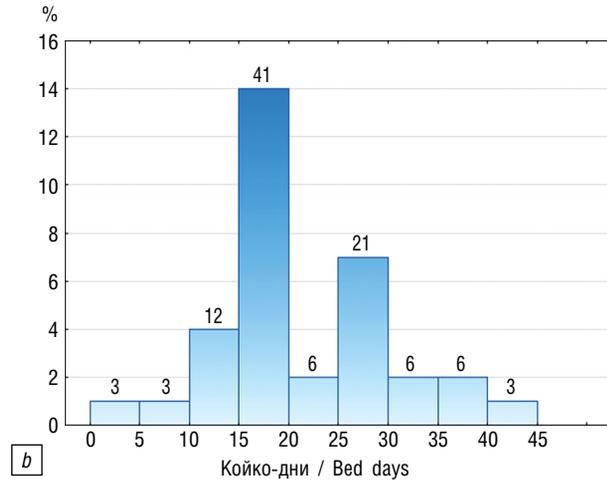
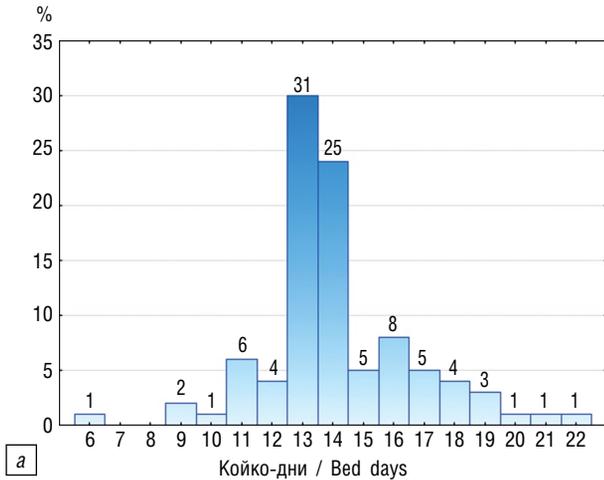


Рисунок. Диапазон койко-дней среди пациентов в инфекционном отделении (а) и в отделении реанимации и интенсивной терапии (б)

Figure. The number of bed-days of patients in the infectious diseases ward (a) and in the intensive care unit (b)

рых преобладали артериальная гипертензия (67,71 против 82,35 %), сахарный диабет (19,79 против 14,71 %), ожирение (4,17 против 5,88 %), острые нарушения мозгового кровообращения (5,21 против 11,76 %). У 11,46 % пациентов первой группы и у 11,76 % пациентов второй группы были выявлены хронические заболевания почек. Заболевания желудочно-кишечного тракта зарегистрированы у 17,71 и 26,47 % пациентов соответственно.

Средняя длительность стационарного лечения составила $14,1 \pm 2,51$ дня (95 % ДИ 2,19–2,93) для пациентов в первой группе и $21,62 \pm 8,81$ дня для пациентов во второй группе (95 % ДИ 7,10–11,59) (см. рисунок).

Средняя длительность пребывания в ОРИИТ составила $8,29 \pm 6,52$ дня (95 % ДИ 5,26–8,58).

Давность симптомов до поступления в стационар составила 6 и 10 дней у 11,46 % пациентов первой группы и 9 дней — у 14,71 % пациентов второй группы.

Результаты анализа ЛП, используемых для лечения COVID-19 и его осложнений в условиях стационара у лиц старших возрастных групп показали, что всего используется более 70 групп ЛП по анатомо-терапевтической-химической классификации. Однако наиболее часто — только 20 групп ЛП.

Среди антибактериальных препаратов в ИО наибольшую долю по объему потребления занимали левофлоксацин (28,42 %), кларитромицин (18,78 %), моксифлоксацин (14,21 %), цефтриаксон (10,66 %), азитромицин (9,64 %), Экоклав (9,14 %), Сультасин (5,08 %), имипенем (2,03 %) и амоксиклав (2,03 %). В ОРИИТ чаще всего использовали кларитромицин (14,16 %), амоксиклав (12,39 %), левофлоксацин (10,62 %), Сультасин (10,62 %),

Бактофлукс (9,73 %), Лефлобакт (8,85 %), имипенем (7,96 %), Максиктам-АФ (5,31 %), линезолид (4,42 %), цефтриаксон (4,42 %), цефтазидим (4,42 %), ванкомицин (3,54 %), Аквапенем (3,54 %). Расходы на антибактериальные ЛП за анализируемый период представлены в табл. 1.

Среди ЛП, используемых для противовирусной терапии, в ИО в основном применяли умифеновир (96,64 %) и редко — гидроксихлорохин (5,36 %). В ОРИИТ преимущественно использовали иммуносупрессивную терапию — Актему (42,11 %), Кевзару (10,53 %) и Плаквенил (36,84 %). Расходы на противовирусные и иммуносупрессивные ЛП за исследуемый период представлены в табл. 2.

Среди антикоагулянтов в ИО наиболее часто назначали Ксарелто (36,84 %), Арикстру (25,44 %), Фраксипарин (22,81 %) и Клексан (14,91 %). В ОРИИТ — гепарин (33,94 %), Ксарелто (23,85 %), Фраксипарин (16,51 %), Эликвис (11,92 %), Флюксум (4,59 %), Арикстру (4,59 %), Клексан (2,75 %) и Анфибру (1,83 %). Расходы на антикоагулянты за исследуемый период представлены в табл. 3.

Анализ использования отхаркивающих ЛП показал, что в ИО лидирующие позиции занимают амброксол (52,163), АЦЦ (21,23 %), флуимуцил (13,68 %), бромгексин (9,47 %), а в ОРИИТ — АЦЦ (51,14 %), амброгексал (43,18 %) и бромгексин (5,68 %). Расходы медицинских организаций на отхаркивающие ЛП за анализируемый период представлены в табл. 4.

Результаты оценки стоимости затрат, связанных с использованием ЛП в фармакотерапии пациентов с COVID-19, позволил рассчитать среднюю стоимость лечения одного

Таблица 1 / Table 1

Фактические расходы на антибактериальные препараты с максимальным объемом потребления в денежном выражении в мае – июле 2020 г.

Actual expenses on the antibacterial drugs with the maximum consumption in monetary terms in May-July 2020

| Торговое наименование лекарственного препарата | Сумма затрат в инфекционном отделении, руб. (n = 96) | Сумма затрат в отделениях реанимации и интенсивной терапии, руб. (n = 34) |
|--|--|---|
| Левифлоксацин, раствор для инфузий, 5 мг/мл, 100 мл — контейнер | 271 061,4 | 10 341,7 |
| Левифлоксацин, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг | 14 730 | 1473,6 |
| Кларитромицин, таблетки с пролонгированным высвобождением, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг | 6916 | 988 |
| Моксифлоксацин, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 400 мг | 19 142 | 797,6 |
| Цефтриаксон, порошок для приготовления раствора для инфузий, 2,0 г, 20 мл | 7758,72 | 508 |
| Азитромицин, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг | 8470,5 | – |
| Экоклав, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 875 мг + 125 мг | 4298,7 | 238,82 |
| Сультасин, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, 1000 мг + 500 мг | 21 612 | 28 816 |
| Имипенем, порошок для приготовления раствора для внутривенного введения, 500 мг + 500 мг | 23 333,05 | 51 691,68 |
| Амоксициллин, порошок для приготовления раствора для внутривенного введения, 1 г + 200 мг | 2509,71 | 10 038,84 |
| Бактофлекс, раствор для инфузий, 5 мг/мл, 100 мл | – | 39 273 |
| Максикам, порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения | – | 24 591 |
| Линезолид, раствор для инфузий, 2 мг/мл, 250 мл | – | 36 339,98 |
| Цефтазидим, порошок для приготовления раствора для внутривенного введения, 2 г, 10 мл | – | 9299,52 |
| Ванкомицин, лиофилизат для приготовления раствора для инфузий и приема внутрь, 1 г | – | 1937,5 |
| Аквапентон, порошок для приготовления раствора для инфузий, 500 мг + 500 мг, 20 мл | – | 33 759 |

Таблица 2 / Table 2

Фактические расходы на противовирусные препараты с максимальным объемом потребления в денежном выражении в мае – июле 2020 г.

Actual expenses on antiviral therapy with maximum consumption in monetary terms in May-July 2020

| Торговое наименование лекарственного препарата | Сумма затрат в инфекционном отделении, руб. (n = 96) | Сумма затрат в отделениях реанимации и интенсивной терапии, руб. (n = 34) |
|---|--|---|
| Умифеновир, капсулы, 100 мг | 15 870,24 | 741,6 |
| Гидроксихлорохин, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 200 мг | 21 995,52 | – |
| Актемра, концентрат для приготовления раствора для инфузий, 20 мг/мл, 20 мл | – | 205 037,56 |
| Плаквенил, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 200 мг | – | 366,91 |
| Кевзара, раствор для подкожного введения, 175 мг/мл, 1,14 мл | – | 158 958,96 |

Таблица 3 / Table 3

Фактические расходы на антикоагулянты с максимальным объемом потребления в денежном выражении в мае – июле 2020 г.

Actual expenses on anticoagulants with maximum consumption in monetary terms in May-July 2020

| Торговое наименование лекарственного препарата | Сумма затрат в инфекционном отделении, руб. (n = 96) | Сумма затрат в отделениях реанимации и интенсивной терапии, руб. (n = 34) |
|--|--|---|
| Ксарелто, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг | 9034,50 | – |
| Ксарелто, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 15 мг | 19 201 | – |
| Ксарелто, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 20 мг | 19 151 | 9575,50 |
| Арикстра, раствор, 2,5 мг/0,5 мл | 146 698,2 | 7334,91 |
| Фраксипарин, раствор для инъекций, 2850 МЕ/0,3 мл | 105 028,2 | 8291,7 |
| Фраксипарин, раствор для инъекций, 5700 МЕ/0,6 мл | 39,087 | 23 452,2 |
| Клексан 0,4, раствор для инъекций, 4000 анти-Ха МЕ/0,4 мл | 18 895, 24 | 0 |
| Клексан, раствор для инъекций, 6000 анти-Ха МЕ/0,6 мл | – | 1308,13 |
| Клексан, раствор для инъекций, 8 тыс. анти-Ха МЕ/0,8 мл | 15 988,38 | – |
| Гепарин, раствор для внутривенного и подкожного введения, 5000 МЕ/мл, 5 мл | – | 18 119,5 |
| Эликвис, таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 5 мг | – | 2070,07 |
| Флюксум, раствор для подкожного введения, 4250 анти-Ха МЕ/0,4 мл | – | 2574,18 |
| Анфибра, раствор для инъекций, 10000 анти-Ха МЕ/мл, 0,4 мл | – | 1314,38 |

Таблица 4 / Table 4

Фактические расходы на отхаркивающие препараты с максимальным объемом потребления в денежном выражении в мае – июле 2020 г.

Actual expenses on expectorants with maximum consumption in monetary terms in May-July 2020

| Торговое наименование лекарственного препарата | Сумма затрат в инфекционном отделении, руб. (n = 96) | Сумма затрат в отделениях реанимации и интенсивной терапии, руб. (n = 34) |
|---|--|---|
| АЦЦ, порошок для приготовления раствора для приема внутрь, 600 мг | 2472,05 | 1695,12 |
| АЦЦ Лонг, таблетки шипучие, 600 мг | 356,90 | – |
| Ацетилцистеин, порошок для приготовления раствора для приема внутрь, 600 мг | 1059,48 | 1483,27 |
| Амброксол, таблетки, 30 мг | 3412,5 | – |
| Амброксол, раствор для приема внутрь и ингаляций, 7,5 мг/мл, 4 мл | – | 1326, 64 |
| Амброгексал 7,5 мг/мл 50 мл раствор для приема внутрь и ингаляций | – | 1249, 99 |
| Флуимуцил, раствор для инъекций и ингаляций, 100 мг/мл, 3 мл | 1881,23 | – |
| Бромгексин, таблетки, 8 мг | 1619,1 | 462,6 |

пациента в ИО и ОРИИТ. Средняя стоимость лечения одного пациента в ИО составила 13 564,63 руб., в ОРИИТ — 32 778,24 руб.

Выводы

На примере медицинских организаций Самары проведен анализ пациентов старших возрастных групп с коронавирусной

инфекцией (COVID-19), проходивших лечение в ИО и ОРИИТ; определены основные симптомы, сопутствующие заболевания и средняя длительность симптомов до поступления в стационар у пациентов в обеих группах.

Среди основных групп ЛП, используемых для лечения COVID-19, лидирующие позиции по объему потребления в денежном выраже-

нии заняли антибактериальные и иммуносупрессивные ЛП.

Анализ используемых ЛП и схем лечения коронавирусной инфекции должен быть положен в основу формирования оптимального ассортимента ЛП, прогнозирования потребности в ЛП на основе научно обоснованных фармакоэкономических подходов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Шамшева О.В. Новый коронавирус COVID-19 (SARS-CoV-2) // Детские инфекции. 2020. Т. 19, № 1. С. 5–6. DOI: 10.22627/2072-8107-2020-19-1-5-6
2. Guan W.J., Liang W.H., Zhao Y. et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis // Eur. Respir J. 2020. Vol. 55, No. 5. P. 2000547. DOI: 10.1183/13993003.00547-2020
3. Jordan R.E., Adab P., Cheng K.K. COVID-19: risk factors for severe disease and death // BMJ. 2020. Vol. 368. P. m1198. DOI: 10.1136/bmj.m1198
4. Raoult D., Zumla A., Locatelli F. et al. Coronavirus infections: Epidemiological, clinical and immunological

features and hypotheses // Cell. Stress. 2020. Vol. 4, No. 4. P. 66–75. DOI: 10.15698/cst2020.04.216

5. Yanez N.D., Weiss N.S., Romand J.A. et al. COVID-19 mortality risk for older men and women // BMC Public Health. 2020. Vol. 20, No. 1. P. 1742. DOI: 10.1186/s12889-020-09826-8

References

1. Shamsheva O.V. New coronavirus COVID-19 (SARS-CoV-2). *Children Infections*. 2020;19(1):5–6. (In Russ.). DOI: 10.22627/2072-8107-2020-19-1-5-6
2. Guan WJ, Liang WH, Zhao Y, et al. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: a nationwide analysis. *Eur Respir J*. 2020;55(5):2000547. DOI: 10.1183/13993003.00547-2020
3. Jordan RE, Adab P, Cheng KK. COVID-19: risk factors for severe disease and death. *BMJ*. 2020;368:m1198. DOI: 10.1136/bmj.m1198
4. Raoult D, Zumla A, Locatelli F, et al. Coronavirus infections: Epidemiological, clinical and immunological features and hypotheses. *Cell Stress*. 2020;4(4):66–75. DOI: 10.15698/cst2020.04.216
5. Yanez ND, Weiss NS, Romand JA, et al. COVID-19 mortality risk for older men and women. *BMC Public Health*. 2020;20(1):1742. DOI: 10.1186/s12889-020-09826-8

▪ Информация об авторах

Елена Павловна Гладунова — доктор фармацевтических наук, профессор кафедры управления и экономики фармации, доцент. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: epg87@mail.ru

Ярослав Евгеньевич Широков — аспирант кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: yshirokov@gmail.com

Елена Александровна Бородулина — доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой фтизиатрии и пульмонологи. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: borodulinbe@yandex.ru

▪ Information about the authors

Elena P. Gladunova — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Professor of the Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: epg87@mail.ru

Yaroslav E. Shirokov — Postgraduate student, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: yshirokov@gmail.com

Elena A. Borodulina — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Phthiology and Pulmonology. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: borodulinbe@yandex.ru

ПОДХОДЫ К СОВЕРШЕНСТВОВАНИЮ ОБЕСПЕЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ ТОВАРАМИ АПТЕЧНОГО АССОРТИМЕНТА

Ф.Р. Пайгин¹, Е.П. Гладунова²

¹ Государственное образовательное учреждение Департамента здравоохранения города Москвы «Медицинский колледж № 6», Москва, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Пайгин Ф.Р., Гладунова Е.П. Подходы к совершенствованию обеспечения медицинских организаций товарами аптечного ассортимента // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 167–176. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.167-176>

Поступила: 21.07.2021

Одобрена: 18.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ Статья посвящена разработке организационных подходов к совершенствованию системы обеспечения медицинских организаций товарами аптечного ассортимента, которая должна строиться на основе детального анализа факторов внешней и внутренней среды. Для оценки влияния факторов внешней среды предложено использование TEMPLES + IM-анализа. Для установления сильных и слабых сторон системы обеспечения медицинских организаций товарами аптечного ассортимента предложено использование SWOT-анализа, дополненного оценкой точности экспертных оценок. Предложенные подходы могут быть положены в основу разработки организационно-экономических моделей совершенствования обеспечения медицинских организаций.

▪ **Ключевые слова:** медицинские организации; товары аптечного ассортимента; факторы внешней и внутренней среды; экспертная оценка.

PROVISION OF MEDICAL ORGANIZATIONS WITH PHARMACEUTICAL PRODUCTS: APPROACHES FOR THE IMPROVEMENT

F.R. Paygin¹, E.P. Gladunova²

¹ Moscow State Medical College No. 6, Moscow, Russia;

² Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Paygin FR, Gladunova EP. Provision of medical organizations with pharmaceutical products: Approaches for the improvement. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):167–176. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.167-176>

Received: 21.07.2021

Revised: 18.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ The article is devoted to the development of organizational approaches to improve the system of supplying medical organizations with pharmacy products. It should be based on detailed analysis of external and internal environmental factors. The use of TEMPLES+IM analysis has been proposed to assess the influence of environmental factors. In order to establish the strong and pain points of the system of supplying medical organizations with pharmaceutical products, the use of SWOT analysis has been proposed, supplemented by the assessment of the accuracy of the expert assessment. The proposed approaches can form the basis for the development of organizational and economic models for improving the provision of health-care facilities.

▪ **Keywords:** medical organizations; pharmacy products; factors of the external and internal environment; expert assessment.

Введение

Основная цель государственной политики в области здравоохранения — формирование системы, обеспечивающей доступность медицинской помощи и повышение эффективности

медицинских услуг, объемы, виды и качество которых должны соответствовать уровню заболеваемости и потребностям населения, передовым достижениям медицинской науки [8]. Реализовать поставленную цель невозможно

без разработки организационных подходов к совершенствованию современных систем обеспечения медицинских организаций (МО) товарами аптечного ассортимента (АА).

В связи с этим, **целью** исследований стала разработка подходов к совершенствованию системы обеспечения медицинских организаций на основе использования методов STEP- и SWOT-анализов.

Материалы и методы

Материалами исследования явились отчетные данные МО и аптечных организаций; разработанные в ходе исследования анкеты для медицинских и фармацевтических специалистов. В ходе исследований были использованы логический, графический, аналитический методы исследования, методы SPER- и SWOT-анализов. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием прикладного программного пакета Statistica 10.0. В зависимости от цели исследования был использован метод расчета описательных статистик: средняя величина и стандартное отклонение ($M \pm SD$), границы 95 % доверительного интервала (ДИ); проверка статистических гипотез осуществлялась с использованием непараметрического критерия Пирсона (χ^2). Уровень значимости при проведении статистического анализа — $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В соответствии с теорией систем и системного анализа, любая система, в том числе и система обеспечения МО товарами АА, не изолирована от других систем. Она связана множеством коммуникаций с окружающей средой, представляющей собой сложное и неоднородное образование [5]. В современном маркетинге для анализа внешнего воздействия на систему наиболее часто используется STEP-анализ. Однако нами предложено использование обновленной модели TEMPES + IM-анализа, позволяющей учитывать значительно большее количество внешних факторов [3, 4].

Для проведения анализа факторы внешней среды были объединены в группы: технологические (Т), экономические (Е), маркетинговые (М), политические (Р), законодательные (Л), экологические (санитарно-гигиенические) (Е), социальные (S), информационные (I) и медицинские (ММ).

К технологическим факторам были отнесены: Т1 Внедрение системы менеджмента качества; Т2 Появление нового технологического

оборудования для осуществления фармацевтической деятельности; Т3 Ускорение технологического прогресса.

В группу экономических факторов были включены: Е1 Стабильная экономическая ситуация в стране и в регионе; Е2 Рост величины валового регионального продукта; Е3 Рост уровня доходов населения; Е4 Рост величины прожиточного минимума; Е5 Темпы роста инфляции; Е6 Снижение количества активного населения; Е7 Нестабильность цен на ресурсы; Е8 Инвестиционная привлекательность региона.

Группу маркетинговых факторов составили: М1 Рост фармацевтического рынка; М2 Рост количества поставщиков товаров аптечного ассортимента; М3 Рост количества аптек различных форм собственности; М4 Снижение количества аптек, осуществляющих изготовление лекарственных препаратов (ЛП); М5 Снижение количества аптек, осуществляющих отпуск контролируемых групп ЛП; М6 Рост количества фармацевтических специалистов; М7 Система непрерывного профессионального образования фармацевтических специалистов.

К политическим факторам были отнесены: Р1 Политическая стабильность; Р2 Программа льготного лекарственного обеспечения; Р3 Территориальные программы оказания бесплатной медицинской помощи; Р4 Налоговая политика в отношении фармацевтической деятельности; Р6 Государственное регулирование цен на лекарственные препараты; Р7 Слабая государственная поддержка науки и инновационной деятельности.

К группе законодательных факторов были отнесены: Л1 Нормативно-правовое регулирование фармацевтической деятельности; Л2 Влияние изменения законодательства; Л3 Значительное количество нормативно-правовых актов; Л4 Ужесточение ответственности за несоблюдение требований; Л5 Уровень правовой грамотности медицинских и фармацевтических специалистов.

Экологические (санитарно-гигиенические) факторы были представлены следующими составляющими: Е1 Экологическая обстановка в регионе; Е2 Природные катаклизмы; Е3 Климатические условия.

Социальные факторы: S1 Снижение показателей рождаемости в регионе; S2 Рост показателей смертности в регионе; S3 Рост показателей инвалидности; S4 Высокие показатели миграционных процессов.

В группу информационных факторов были включены: I1 Внедрение программы информатизации здравоохранения в регио-

не; I2 Персонализированный учет движения лекарственных препаратов; I3 Персонализированный учет оказания ЛП населению; I4 Внедрение систем электронных баз данных; I5 Наличие современного рынка программных продуктов; I6 Наличие современного рынка качественного и высокоэффективного оборудования.

В завершающую группу медицинских факторов вошли: MM1 Рост общей заболеваемости населения; MM2 Рост заболеваемости по социально-значимым видам заболеваний; MM3 Рост числа медицинских организаций; MM3 Финансирование системы здравоохранения; MM4 Программы дополнительного медицинского страхования.

Влияние факторов внешней среды оценивали методом экспертных оценок. Для проведения экспертной оценки была разработана анкета. Для проведения исследований в качестве экспертов были привлечены 48 специалистов медицинских и фармацевтических организаций. Оценку компетентности экспертов выполняли согласно установленным балльным оценочным шкалам по показателям: P_i — занимаемая должность; S_i — стаж работы эксперта; C_i — квалификационная категория; E_i — наличие ученой степени и ученого звания [1, 2].

Максимальная величина компетентности составляла 20 баллов, которая для проведения дальнейшего анализа была принята за единицу.

Как показали расчеты, 39,6 % (19 экспертов) имели весовой коэффициент компетентности ($K_{вк}$) 0,7, их суммарный коэффициент компетенции ($K_{ск}$) находился в диапазоне от 13,2 до 14,8 баллов (см. рисунок).

Среднее значение коэффициента компетентности эксперта по данным расчетов

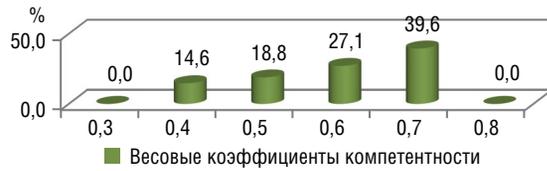


Рисунок. Распределение экспертов по весовым коэффициентам компетентности

Figure. Distribution of experts by weight coefficients of competence

составило $11,6 \pm 1,02$ (95 % ДИ 9,58; 13,15), что превысило 50 % значение показателя.

Согласованность мнений экспертов оценивали на основе расчета коэффициентов корреляции Пирсона (χ^2) [6, 7]. Результаты, проведенных расчетов представлены в табл. 1.

Результаты оценки показывают высокую согласованность мнений экспертов по всем группам анализируемых внешних факторов. Значение критерия Пирсона (χ^2) превышало критическое значение ($\chi^2 = 72,43$) при $p < 0,05$ [9].

При проведении экспертной оценки каждый фактор оценивали по показателям: важность фактора (I), «опасность» или «возможность» (D) воздействия фактора на анализируемую систему, вероятность события (P), оценка фактора (E). Результаты оценки технологических факторов представлены в табл. 2.

По мнению экспертов, наибольшее влияние на совершенствование обеспечения МО товарами АА оказывает внедрение системы менеджмента качества, основанной на международных стандартах серии ISO. Оценочный показатель силы влияния фактора (Z) составил +56,2. Среди экономических факторов, по мнению экспертов, наиболее сильное

Таблица 1 / Table 1

**Результаты оценки согласованности мнений экспертов
Results of the assessment of the consistency of experts' viewpoints**

| Факторы внешней среды | Критерий Пирсона (χ^2) | Уровень значимости (p) |
|-----------------------------|-------------------------------|------------------------|
| Технологические факторы (Т) | 80,64 | 0,0028 |
| Экономические факторы (Е) | 208,32 | 0,00012 |
| Маркетинговые факторы (М) | 164,16 | 0,00025 |
| Политические факторы (Р) | 169,92 | 0,00019 |
| Законодательные факторы (L) | 120,96 | 0,00071 |
| Экологические факторы (Е) | 118,08 | 0,00097 |
| Социальные факторы (S) | 120,96 | 0,00071 |
| Информационные факторы (I) | 160,80 | 0,00031 |
| Медицинские факторы (ММ) | 138,24 | 0,00051 |

Таблица 2 / Table 2

Оценка силы влияния технологических (Т) факторов
Assessment of the impact of technological (T) factors

| Технологические факторы | Оценка фактора (max) | I | D | P | E | Z | Z _{max} |
|--|----------------------|------|----|------|------|--------------|------------------|
| Т-1 Внедрение системы менеджмента качества | 5 | 4,38 | +1 | 2,46 | 4,08 | +56,2 | +63,5 |
| Т-2 Появление нового технологического оборудования для осуществления фармацевтической деятельности | 5 | 3,23 | +1 | 1,45 | 3,23 | +15,1 | +48,5 |
| Т-3 Ускорение технологического прогресса | 5 | 2,86 | +1 | 1,32 | 3,12 | +11,8 | +42,9 |
| ИТОГО: | | | | | | +83,1 | +154,9 |

положительное влияние оказывают факторы: рост валового регионального продукта (+27,01); рост уровня реальных доходов населения (+35,81). Отрицательное внешнее воздействие оказывают высокие темпы инфляции в экономике (-44,51) и нестабильность цен на ресурсы, в том числе на энергоресурсы (-35,31).

Как показали результаты экспертной оценки, из группы маркетинговых факторов положительное влияние оказывают рост фармацевтического рынка (+18,83) и система непрерывного профессионального образования медицинских и фармацевтических специалистов (+21,24). Однако такие факторы, как снижение количества аптек, осуществляющих изготовление ЛП (-54,18) и снижение количества аптек, отпускающих контролируемые группы ЛП (-52,5), оказывают неблагоприятное воздействие и являются угрозами в деятельности МО.

Среди политических факторов наиболее благоприятные условия внешней среды — финансирование программы льготного лекарственного обеспечения населения Российской Федерации (+40,19); финансирование территориальных программ оказания бесплатной медицинской помощи (+44,64). Из неблагоприятных политических факторов эксперты выделяют несовершенство существующей системы налогообложения (-34,11), отсутствие льгот для фармацевтических организаций, осуществляющих обеспечение МО товарами АА (-23,31) и, особенно, снижение финансирования системы здравоохранения (-49,02).

Законодательные факторы играют существенную роль в разработке модели совершенствования обеспечения МО товарами АА. При создании подобных моделей необходимо особое внимание обратить на неблагоприятные факторы, такие как нормативно-правовое регулирование фармацевтической деятельности (+45,28) и предполагаемые изменения

в законодательном регулировании, направленные на повышение качества оказания лекарственной помощи (+35,10). Однако существуют и угрозы со стороны законодательного регулирования — значительное количество нормативно-правовых актов, содержащих в том числе противоречивые требования (-51,19) и ужесточение административной ответственности за несоблюдение требования к осуществлению медицинской и фармацевтической деятельности (-34,86).

Результаты оценки влияния экологических факторов показали следующее. Наиболее сильное положительное влияние оказывают факторы: экологическая обстановка в регионе (+42,63); рост показателей общей заболеваемости населения Самарской области (+55,95). Анализируемая группа экологических (санитарно-гигиенических) факторов, с одной стороны, оказывает отрицательное воздействие на санитарное благополучие в регионе, а с другой стороны, относится к факторам, приводящим к стимулированию потребности МО в совершенствовании системы обеспечения товарами АА.

Как показали результаты анализа, эксперты указали на высокую значимость социальных факторов, присвоив всем приблизительно равные оценки силы их влияния. К факторам, способствующим повышению спроса на разработку таких моделей, эксперты отнесли рост показателей инвалидности (+25,59) и высокие показатели миграционных процессов (+24,31). К неблагоприятным факторам были отнесены снижение рождаемости (-32,27) и рост смертности в регионе (-23,86).

Среди факторов внешней среды эксперты выделили группу информационных факторов. Все информационные факторы имеют единую положительную направленность воздействия. Наиболее сильное положительное влияние оказывают факторы: внедрение системы персонализированного учета ЛП (+34,47);

внедрение системы персонифицированного учета оказания лекарственной помощи населению и МО (+26,17); разработка электронных баз данных (+25,61) и внедрение программ информатизации здравоохранения в регионе (+23,62). Рост заболеваемости населения (+32,74), рост заболеваемости социально значимыми заболеваниями (+33,06), развитие программы дополнительного медицинского страхования (+28,41) относятся к медицинским факторам, способствующим формированию спроса на совершенствование системы обеспечения МО товарами АА. Среди неблагоприятных медицинских факторов эксперты выделили снижение финансирования системы

здравоохранения (-49,61). Таким образом, в результате проведенного TEMPLES + IM-анализа были выделены благоприятные и неблагоприятные факторы внешней среды.

Для оценки факторов внутренней среды был использован SWOT-анализ для выделения сильных и слабых сторон в деятельности МО. Основным инструментом для проведения SWOT-анализа стала экспертная оценка. В ходе исследований была построена первичная таблица SWOT-анализа, в которой все факторы внешней среды были сгруппированы в зоны «Возможности» (O) и «Угрозы» (W), а факторы внутренней среды в зоны «Силы» (S) и «Слабости» (T) (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

Первичная матрица SWOT-анализа
The primary matrix of SWOT analysis

| | ВНЕШНЯЯ СРЕДА | | ВНУТРЕННЯЯ СРЕДА | |
|---|--|----|---|-----|
| | Возможности (O) | | Силы (S) | |
| + | Внедрение стандартов серии ISO | O1 | Структура заболеваемости | S1 |
| | Рост уровня дохода населения | O2 | Структура заболеваемости социально-значимыми заболеваниями | S2 |
| | Программа льготного лекарственного обеспечения | O3 | Система менеджмента качества | S3 |
| | Территориальные программы оказания бесплатной медицинской помощи | O4 | Отсутствие регламентов деятельности аптек медицинских организаций | S4 |
| | Нормативно-правовое регулирование фармацевтической деятельности | O5 | Цены на товары аптечного ассортимента | S5 |
| | Изменения в законодательстве | O6 | Формирование цен на контролируемые лекарственные препараты | S6 |
| | Информатизация в здравоохранении и в фармацевтической практике | O7 | Стабильность ассортимента | S7 |
| | | | Возможность прогнозирования потребности | S8 |
| | | | Проведение фармакоэкономических исследований | S9 |
| | | | Возможность введения системы разовых доз | S10 |
| | | | Контроль рациональности назначения лекарственных препаратов и медицинских изделий | S11 |
| | | | Контроль безопасности и экономичности инфузионной терапии | S12 |
| | | | Должность клинического фармаколога | S13 |
| | | | Финансирование медицинской организации | S14 |
| | | | Профиль деятельности медицинской организации | S15 |
| | | | Мощность медицинской организации | S16 |
| | | | Информатизация в медицинской организации | S17 |

| Угрозы (W) | | Слабости (T) | |
|---|----|---|-----|
| Рост уровня инфляции | W1 | Высокая стоимость оборудования | T1 |
| Рост цен на ресурсы | W2 | Высокие затраты на создание условий для осуществления деятельности | T2 |
| Снижение количества производственных аптек | W3 | Отсутствие стандартов к внутри аптечному изготовлению | T3 |
| Снижение количества аптек, отпускающих наркотические средства и психотропные вещества | W4 | Отсутствие анализа рецептуры медицинских организаций | T4 |
| Снижение финансирования системы здравоохранения | W5 | Недостаточность персонала | T5 |
| Значительное количество нормативных документов | W6 | Профессиональная подготовка в области больничной фармации | T6 |
| Ухудшение экологической обстановки | W7 | Уровень оплаты труда персонала | T7 |
| Рост общей заболеваемости населения | W8 | Система поощрений за показатели работы | T8 |
| Рост заболеваемости социально-значимыми заболеваниями | W9 | Несовершенство системы закупочной деятельности | T9 |
| | | Методика формирования стоимости лекарственных препаратов внутриаптечного изготовления | T10 |

Была построена корреляционная матрица SWOT-анализа, на основании которой эксперты оценивали силу взаимосвязи факторов макро- и микросреды с точки зрения влияния на систему обеспечения МО товарами АА (табл. 4).

Эксперты проводили оценку макрофакторов, расположенных по горизонтальной строке матрицы, по показателям: вероятность появления фактора (P_j) и коэффициент влияния (K_j). Вероятность P_j оценивалась экспертами в баллах от 0 до 1; коэффициент влияния K_j — по 3-балльной шкале.

Оценку внутренних факторов, расположенных по вертикали матрицы, проводили по отношению к воздействию на фактор внешней среды — способен ли фактор внутренней среды использовать «Возможности» и минимизировать влияние «Угрозы» макросреды.

Завершающая корреляционная матрица строилась на основе показателя зависимости факторов (N), который определяли по формуле:

$$N_{ij} = A_{ij} K_j P_j a_{ij},$$

где: N_{ij} — величина зависимости факторов; A_{ij} — оценка взаимосвязи факторов внешней и внутренней среды; K_j — коэффициент влияния фактора внешней среды; P_j — вероятность появления внешнего фактора; a_{ij} — оценка интенсивности проявления внутреннего фактора.

Результаты расчетов величины зависимости факторов (N_{ij}) представлены в табл. 5.

Результаты проведенного анализа позволили установить в каждой зоне матрицы факторы SO, SW, TO, TW, обладающие максимальной зависимостью, с положительной и отрицательной направленностью воздействия.

К зоне SO — к сильным внутренним факторам аптечной организации (АО), которые позволяют максимально использовать возможности макросреды, эксперты отнесли: разработку и внедрение внутренних стандартов, направленных на повышение качества медицинской и лекарственной помощи; стабильную структуру нозологических форм заболеваний, в том числе социально-значимых заболеваний, регистрируемых в медицинской организации; отсутствие жестких стандартов, регламентирующих деятельность аптек МО на законодательном уровне; отсутствие государственного регулирования цен на фармацевтические субстанции, которое позволяет самостоятельно разрабатывать систему установления тарифов с целью обеспечения финансовой эффективности деятельности по внутриаптечному изготовлению ЛП, планированию финансовых ресурсов, необходимых для закупки фармацевтических субстанций; стабильность ассортимента ЛП и возможность использования научно-обоснованных методик прогнозирования потребности в ЛП на основе результатов фармакоэкономических

Таблица 4 / Table 4

Корреляционная матрица оценки влияния факторов внешней и внутренней среды
External and internal environmental factors: correlation matrix for the assessment of its influence

| Эксперт № | Возможности (O) | | | | | | | Угрозы (W) | | | | | | | | | |
|---------------------------------|-----------------|----------|----------|----|----|----|----|------------|----|----------|----------|----|----|----|----|----|--|
| | O1 | O2 | O3 | O4 | O5 | O6 | O7 | W1 | W2 | W3 | W4 | W5 | W6 | W7 | W8 | W9 | |
| Вероятность появления (P_j) | P_j | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Коэффициент влияния (K_j) | K_j | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Сильные стороны (S) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S1 | a_i | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S2 | | | A_{ij} | | | | | | | A_{ij} | A_{ij} | | | | | | |
| S3 | | A_{ij} | | | | | | | | | | | | | | | |
| S4 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S5 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S6 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S7 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S8 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S9 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S10 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S11 | | | A_{ij} | | | | | | | | | | | | | | |
| S12 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S13 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S14 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S15 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S16 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S17 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Слабые стороны (T) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T1 | a_i | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T2 | | A_{ij} | | | | | | | | | | | | | | | |
| T3 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T4 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T5 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T6 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T7 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T8 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T9 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| T10 | | | | | | | | | | | | | | | | | |

исследований с целью оптимизации осуществления государственных закупок; наличие должности клинического фармаколога в медицинских организациях; возможность контроля за рациональным назначением ЛП, безопасностью и эффективностью инфузионной терапии для повышения качества оказания лекарственной помощи; стабильное финансирование медицинских организаций в рамках федеральных и региональных программ; внедрение в деятельность медицинских организаций процессов информатизации при оказании медицинской и фармацевтической помощи.

К зоне SW — к сильным внутренним факторам, которые позволяют минимизировать угрозы со стороны внешних факторов, экспертами были отнесены: внедрение системы менеджмента качества в деятельность МО;

стабильная структура заболеваемости в МО; отсутствие государственного регулирования ценообразования на фармацевтические субстанции; государственное регулирование цен на контролируемые группы ЛП; стабильность ассортимента и возможность научного прогнозирования потребности в ЛП; стабильность финансирования МО; внедрение информатизации в системе здравоохранения.

Зона TO характеризует слабые стороны в деятельности АО, которые не позволяют в полной мере использовать возможности макросреды. К таким внутренним факторам экспертами были отнесены: высокие затраты на создание необходимых условий для осуществления деятельности по изготовлению ЛП и обороту контролируемых групп ЛП;

Таблица 5 / Table 5

Результаты SWOT-анализа по оценке зависимости факторов внешней и внутренней среды
Results of the SWOT analysis to assess the dependence of external and internal environmental factors

| Сильные стороны (S) | Возможности (O) | | | | | | | Угрозы (W) | | | | | | | | | |
|---------------------|-----------------|---------|---------|----------|---------|----------|---------|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|---------|---------|
| | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | SW | | | | | | | | | W9 |
| | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | W1 | W2 | W3 | W4 | W5 | W6 | W7 | W8 | | |
| Сумма | 67,22 | 2,908 | 16,456 | 12,316 | 7,268 | 5,951 | 3,529 | 57,891 | 1,746 | 7,173 | 14,829 | 12,239 | 12,905 | 4,158 | 0,765 | 2,375 | 1,701 |
| S2 | 63,501 | 17,496 | 3,140 | 17,183 | 12,259 | 7,013 | 2,811 | 59,897 | 1,701 | 7,270 | 14,447 | 13,049 | 14,384 | 4,051 | 1,024 | 2,314 | 1,657 |
| S3 | 102,377 | 20,368 | 6,137 | 17,571 | 11,441 | 19,881 | 9,988 | 85,015 | 3,810 | 9,367 | 17,821 | 12,853 | 13,617 | 9,029 | 0,895 | 13,873 | 3,750 |
| S4 | 38,038 | 12,679 | 2,073 | 5,188 | 3,911 | 6,076 | 2,635 | 27,825 | 1,367 | 2,794 | 5,726 | 4,971 | 4,202 | 3,507 | 0,622 | 1,879 | 2,757 |
| S5 | 54,13 | 6,725 | 2,383 | 6,614 | 10,731 | 13,475 | 8,526 | 43,728 | 1,603 | 7,735 | 6,708 | 8,112 | 7,462 | 4,072 | 0,730 | 4,257 | 3,049 |
| S6 | 61,728 | 8,060 | 2,604 | 16,927 | 11,999 | 10,106 | 3,278 | 57,929 | 1,867 | 8,994 | 15,743 | 6,300 | 12,107 | 4,169 | 0,767 | 4,651 | 3,331 |
| S7 | 62,683 | 14,870 | 2,784 | 10,833 | 9,900 | 12,098 | 6,269 | 43,547 | 2,801 | 2,695 | 11,400 | 5,688 | 8,734 | 3,350 | 0,599 | 5,105 | 3,175 |
| S8 | 69,449 | 15,263 | 4,728 | 14,995 | 9,767 | 7,124 | 8,398 | 48,616 | 3,715 | 6,092 | 6,178 | 6,808 | 12,146 | 3,750 | 0,697 | 5,378 | 3,852 |
| S9 | 55,307 | 14,547 | 5,667 | 7,170 | 8,522 | 6,451 | 7,188 | 41,815 | 2,947 | 2,940 | 5,590 | 5,513 | 12,050 | 3,360 | 0,686 | 5,086 | 3,643 |
| S10 | 45,674 | 12,012 | 1,746 | 4,327 | 6,756 | 11,187 | 4,417 | 33,080 | 1,141 | 2,144 | 4,776 | 5,753 | 8,797 | 2,690 | 0,519 | 4,230 | 3,030 |
| S11 | 47,834 | 12,373 | 1,992 | 9,402 | 3,296 | 6,849 | 7,902 | 35,513 | 1,661 | 2,399 | 5,394 | 4,976 | 9,885 | 3,128 | 0,587 | 4,360 | 3,123 |
| S12 | 48,446 | 13,692 | 2,142 | 5,885 | 8,369 | 7,409 | 6,133 | 39,824 | 2,061 | 5,207 | 6,449 | 4,720 | 10,599 | 3,332 | 0,631 | 3,977 | 2,848 |
| S13 | 44,003 | 11,838 | 1,935 | 4,843 | 3,458 | 7,973 | 8,916 | 27,383 | 1,376 | 2,586 | 5,009 | 2,377 | 4,193 | 3,216 | 0,559 | 4,700 | 3,367 |
| S14 | 45,466 | 12,611 | 2,515 | 6,294 | 4,284 | 8,767 | 5,656 | 66,642 | 3,946 | 6,387 | 18,650 | 15,594 | 6,098 | 4,635 | 0,734 | 6,175 | 4,423 |
| S15 | 20,705 | 5,053 | 1,300 | 3,284 | 2,385 | 3,807 | 2,922 | 24,582 | 0,849 | 1,580 | 8,903 | 4,032 | 2,788 | 2,119 | 0,405 | 2,276 | 1,630 |
| S16 | 24,49 | 5,465 | 1,586 | 3,972 | 2,577 | 5,274 | 3,468 | 24,959 | 0,988 | 1,857 | 8,396 | 4,740 | 3,247 | 2,468 | 0,454 | 1,331 | 1,478 |
| S17 | 89,862 | 19,180 | 2,768 | 17,956 | 8,924 | 15,345 | 9,710 | 70,402 | 4,687 | 7,357 | 17,325 | 12,495 | 11,603 | 5,010 | 0,831 | 6,464 | 4,630 |
| Сумма | 940,913 | 221,02 | 48,41 | 168,90 | 130,90 | 156,10 | 120,60 | 788,65 | 38,27 | 84,58 | 173,34 | 130,22 | 154,82 | 66,04 | 11,51 | 78,43 | 51,44 |
| 1474,408 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Слабые стороны (T) | ТO | | | | | | | ТW | | | | | | | | | |
| | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | TW | | | | | | | | | T9 |
| | 01 | 02 | 03 | 04 | 05 | 06 | 07 | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | |
| Т1 | -39,508 | -5,141 | -4,272 | 10,166 | -3,605 | -6,883 | -4,375 | -54,309 | -2,778 | -5,479 | -11,327 | -11,893 | -9,820 | -6,229 | -0,584 | -3,612 | -2,587 |
| T2 | -77,766 | -7,310 | -5,888 | -14,804 | -5,273 | -19,062 | -17,668 | -102,788 | -21,313 | -8,688 | -19,365 | -16,935 | -14,850 | -10,435 | -0,855 | -6,029 | -4,318 |
| T3 | -38,595 | -7,774 | -3,358 | -8,404 | -2,542 | -11,094 | -3,580 | -31,342 | -2,588 | -1,973 | -9,653 | -3,226 | -3,898 | -5,130 | -0,431 | -2,589 | -1,854 |
| T4 | -45,81 | -8,537 | 5,860 | -16,949 | -5,226 | -10,797 | -6,526 | -85,859 | -4,424 | -8,688 | -19,365 | -16,935 | -14,850 | -10,435 | -0,815 | -6,029 | -4,318 |
| T5 | -51,165 | -11,158 | -1,823 | -9,084 | -5,878 | -9,251 | -9,606 | -28,317 | 1,085 | -2,898 | -5,536 | -3,982 | -6,170 | -5,292 | -0,484 | -2,937 | -2,103 |
| T6 | -56,747 | -12,421 | -2,121 | -9,344 | -7,255 | -10,955 | -9,994 | -29,335 | -1,283 | -2,647 | -7,341 | -4,327 | -4,371 | -3,619 | -0,562 | -3,021 | -2,164 |
| T7 | -22,02 | -3,623 | -1,411 | -7,032 | -5,262 | -4,178 | 2,831 | -19,418 | -0,922 | -1,748 | -5,389 | -2,886 | -2,629 | -3,487 | -0,378 | -1,153 | -0,826 |
| T8 | -39,678 | -9,939 | -2,117 | -4,773 | -6,626 | -6,216 | -5,181 | -28,629 | -1,383 | -2,646 | -8,326 | -4,749 | -4,330 | -3,614 | -0,584 | -1,746 | -1,251 |
| T9 | -72,177 | -7,035 | -5,725 | -16,898 | -10,209 | -18,188 | -7,900 | -67,400 | -4,091 | -6,337 | -13,164 | -13,100 | -13,142 | -9,235 | -0,756 | -4,414 | -3,161 |
| T10 | -50,683 | -5,322 | 2,032 | -14,597 | -3,565 | -14,014 | -12,582 | -51,974 | -2,934 | -2,794 | -14,804 | -5,912 | -9,640 | -8,642 | -0,611 | -3,867 | -2,770 |
| Сумма | -494,149 | -78,31 | -18,823 | -112,051 | -51,876 | -110,638 | -74,581 | -499,371 | -40,631 | -43,898 | -114,7 | -83,915 | -83,7 | -66,118 | -6,06 | -35,397 | -25,352 |
| -490,584 | | | | | | | | | | | | | | | | | |

отсутствие анализа экстемпоральной рецептуры; недостаточность фармацевтического персонала, обладающего высокими профессиональными навыками; отсутствие профессиональной подготовки в области больницы фармации; отсутствие научно обоснованных и утвержденных методик формирования стоимости ЛП при внутриаптечном изготовлении.

К зоне ТW эксперты отнесли слабые факторы внутренней среды, которые не только не позволяют использовать «возможности» макросреды, но и усиливают действие «угроз», такие как: высокие затраты на создание необходимых условий для осуществления деятельности по изготовлению ЛП, обороту контролируемых групп ЛП; высокая стоимость оборудования для осуществления внутриаптечного изготовления ЛП; отсутствие анализа экстемпоральной рецептуры; недостатки при осуществлении закупочной деятельности; отсутствие единой научно обоснованной методики оценки затрат на внутриаптечное изготовление ЛП с целью формирования экономических эффективных стоимостных показателей.

Выводы

1. Совершенствование системы обеспечения МО товарами аптечного ассортимента должно строиться на основе детального анализа факторов внешней и внутренней среды. Для оценки влияния факторов внешней среды предложено использование разработанного TEMPLES + IM-анализа. В ходе анализа выявлены благоприятные и неблагоприятные факторы внешней среды (возможности и угрозы). С целью установления сильных и слабых сторон системы обеспечения МО товарами АА предложено использование SWOT-анализа, дополненного оценкой точности экспертных оценок.
2. Результаты SWOT-анализа позволили выделить стратегические поля: SO — сильные внутренние факторы АО, которые позволяют максимально эффективно использовать «возможности» макросреды; SW — сильные внутренние факторы, позволяющие минимизировать внешние «угрозы»; TO — слабые стороны деятельности АО, которые не позволяют в полной мере использовать «возможности» макросреды; TW — слабые факторы внутренней среды, которые не только не позволяют использовать «возможности» макросреды, но и усиливают действие «угроз».
3. Предложенные подходы на основе комплексного TEMPLES + IM-анализа и SWOT-

анализа могут быть положены в основу разработки организационно-экономических моделей совершенствования обеспечения МО товарами АА.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Список литературы

1. Бешелев С.Д., Гуревич Ф.Г. Математико-статистические методы экспертной оценки. М.: Статистика, 1980.
2. Бешелев С.Д., Гуревич Ф.Г. Экспертные оценки. М.: Наука, 1973.
3. Гайдаенко Т.А. Маркетинговое управление. М.: Эксмо, 2008.
4. Евланов Л.Г., Кутузов В.А. Экспертные оценки в управлении. М.: Экономика, 1978.
5. Прохорова И.А. Теория систем и системный анализ: учебное пособие. Челябинск, 2013.
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2002.
7. Решетников А.В., Ефименко С.А. Проведение медико-социологического исследования. М., 2007.
8. Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. № 23-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».
9. Халафян А.А. Statistica 6. Математическая статистика с элементами теории вероятностей. М., 2010.

References

1. Beshelev SD, Gurevich FG. Matematiko-statisticheskie metody ekspertnoi otsenki. Moscow: Statistika; 1980. (In Russ.)
2. Beshelev SD, Gurevich FG. Ekspertnye otsenki. Moscow: Nauka; 1973. (In Russ.)
3. Gajdaenko TA. Marketingovoe upravlenie. Moscow: Eksmo; 2008. (In Russ.)
4. Evlanov LG, Kutuzov VA. Ekspertnye otsenki v upravlenii. Moscow: Ekonomika; 1978. (In Russ.)
5. Prohorova IA. Teoriya sistem i sistemnyi analiz: uchebnoe posobie. Chelyabinsk; 2013. (In Russ.)
6. Rebrova OYu. Statisticheskii analiz medicinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA. Moscow; 2002. (In Russ.)
7. Reshetnikov AV, Efimenko SA. Provedenie mediko-sotsiologicheskogo issledovaniya. Moscow; 2007. (In Russ.)
8. Federal'nyi zakon ot 21 noyabrya 2011 g. N 323-FZ "Ob osnovakh okhrany zdorov'ya grazhdan v Rossiiskoi Federatsii". (In Russ.)
9. Halafyan AA. Statistica 6. Matematicheskaya statistika s elementami teorii veroyatnostei. Moscow; 2010. (In Russ.)

▪ Информация об авторах

Фатих Рафикович Пайгин — ассистент отделения фармакологии. ГБОУ ДЗМ «Медицинский колледж № 6», Москва, Россия. E-mail: fatikhpaygin@mail.ru

Елена Павловна Гладунова — доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: epg87@mail.ru

▪ Information about the authors

Fatih R. Paigin — Assistant, Department of Pharmacology. Moscow State Medical College No. 6, Moscow, Russia. E-mail: fatikhpaygin@mail.ru

Elena P. Gladunova — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: epg87@mail.ru

ОБЗОР КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ (COVID-19)

Я.Е. Ширококов, Е.П. Гладунова, Е.А. Бородулина

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
 «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
 Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Ширококов Я.Е., Гладунова Е.П., Бородулина Е.А. Обзор клинических исследований лекарственных препаратов для лечения пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 177–190. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.177-190>

Поступила: 17.08.2021

Одобрена: 30.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Обоснование.** Новая коронавирусная инфекция (COVID-19), вызванная вирусом SARS-CoV-2, быстро переросла во всемирную пандемию, несущую значительное бремя для здравоохранения. На данный момент каких-либо утвержденных лекарственных препаратов или превентивных терапевтических стратегий для борьбы с инфекцией не существует. Тем не менее в мире проводятся сотни клинических исследований, направленных на открытие эффективных методов лечения от COVID-19.

Цель исследования — контент-анализ проводимых клинических исследований, опубликованных по лечению пациентов с COVID-19, а также результатов обобщения клинического опыта лечения с целью получения представления о потенциально эффективных лекарственных препаратах.

Материалы и методы. Результаты клинических исследований, опубликованных в PubMed, Medline, eLIBRARY, Кокрановской библиотеке.

Результаты. В результате проведенного обзора обобщены результаты клинических исследований потенциальных терапевтических препаратов, используемых в терапии COVID-19.

Выводы. По состоянию на 15 августа 2021 г. зарегистрированных лекарств для лечения этой инфекции нет.

▪ **Ключевые слова:** COVID-19; SARS-CoV-2; систематический обзор; рандомизированное контролируемое исследование.

OVERVIEW OF CLINICAL TRIALS OF DRUGS FOR THE TREATMENT OF PATIENTS WITH NEW CORONAVIRUS INFECTION (COVID-19)

Ya.E. Shirobokov, E.P. Gladunova, E.A. Borodulina

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Shirobokov YaE, Gladunova EP, Borodulina EA. Overview of clinical trials of drugs for the treatment of new coronavirus infection (COVID-19). *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):177–190. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.177-190>

Received: 17.08.2021

Revised: 30.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **BACKGROUND:** The new coronavirus infection (SARS-CoV-2), better known as COVID-19, quickly evolved into a worldwide pandemic with a significant public health burden. Currently, there are no approved drugs or preventive therapeutic strategies to combat infection. However, there are hundreds of clinical studies around the world to discover effective treatments for COVID-19.

AIM: The purpose of the research is to conduct a content analysis of the published clinical trials devoted to the treatment of COVID-19, as well as to the synthesis of clinical experience in order to gain insight into potentially effective drugs.

MATERIALS AND METHODS: Clinical results published in PubMed, Medline, eLIBRARY, Cochrane Library.

RESULTS: The review summarized the results of clinical studies of potential therapeutic drugs used in COVID-19 therapy.

CONCLUSIONS: By the 15 of August 2021 no medications had been registered to treat the infection.

▪ **Keywords:** COVID-19; SARS-CoV-2; systematic review; randomized controlled trial.

Обоснование

В конце 2019 г. в Ухане (провинция Хубэй, Китай) были зарегистрированы случаи пневмонии, вызванной SARS-CoV-2. В последующем новая коронавирусная инфекция (COVID-19) быстро распространилась по всему миру, затронув более 200 стран. Данный вирус характеризуется высокой контагиозностью, быстрым развитием двусторонних пневмоний, сопровождающихся дыхательной недостаточностью и острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС), а также высокой смертностью среди людей пожилого возраста и пациентов с сопутствующими заболеваниями [17, 20].

Инфекция распространяется воздушно-капельным, фекально-оральным и контактными путями. Источником инфекции становятся люди с клинически выраженной или стертой формой заболевания [2, 16, 36].

По состоянию на 25 июля 2020 г. во всем мире было зарегистрировано 15 961 099 случаев заболевания и 643 118 случаев летального исхода. До настоящего времени не существует специальных лекарственных препаратов (ЛП) для лечения данной инфекции. В связи с этим единственный способ борьбы с инфекцией — использование существующих ЛП, у которых хорошо известны механизмы действия, потенциальная эффективность, цитотоксичность и дозировки. Однако, будучи препаратами другой направленности, эффект используемых ЛП не ориентирован полностью на вирус [41, 47].

Цель данного исследования — контент-анализ проводимых клинических исследований, опубликованных по лечению COVID-19, а также результатов обобщения клинического опыта лечения с целью получения представления о потенциально эффективных ЛП.

Материалы и методы

Результаты клинических исследований, опубликованных в PubMed, Medline, eLibrary, Кокрановской библиотеке.

Результаты и их обсуждение

Итогом проведенного обзора стало обобщение результатов клинических исследований потенциальных терапевтических препаратов, используемых в терапии COVID-19.

Противовирусные препараты

Дарунавир/кобицистат

Дарунавир — непептидный ингибитор ВИЧ-1-протеазы с бимодальным механизмом действия, включая подавление димеризации

ВИЧ-протеазы и ферментативной активности протеазы. Протеаза SARS-CoV-2 является одной из мишеней, потому что ее ингибирование может блокировать вирус [41].

Е. J. Kim и соавт. [27] провели ретроспективный обзор амбулаторных карт и историй болезней пациентов с тяжелым острым респираторным синдромом, проходивших лечение в реанимационном отделении в связи с COVID-19. Исследователи сравнивали результаты лечения пациентов, которые в качестве терапии получали дарунавир/кобицистат (группа исследования, $n = 14$) в дозе 800–150 мг или другие противовирусные препараты (контрольная группа, $n = 96$). Согласно полученным данным заболевание у пациентов в группе исследования протекало в более легкой форме, а уровень смертности был статистически значимо ниже, чем в контрольной группе [отношение шансов (ОШ) 0,20; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,04–0,89, $p = 0,035$]. После псевдорандомизации для устранения конфаундинг-эффекта различных факторов, искажающих результаты при сравнении наблюдаемых групп, результат не изменился. В группе исследования была зафиксирована более низкая смертность, чем в контрольной группе (ОШ 0,07; 95 % ДИ 0,01–0,52, $p = 0,009$). Авторы сделали вывод, что применение дарунавир/кобицистата привело к улучшению выживаемости у пациентов в критическом состоянии с инфекцией SARS-CoV-2.

J. Chen и соавт. [11] провели одноцентровое рандомизированное открытое исследование для оценки эффективности и безопасности дарунавир и кобицистата в лечении пневмонии COVID-19 легкой степени тяжести (выраженность патологических изменений менее 25 %). В исследовании приняло участие 30 пациентов, у которых был подтвержден SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Пациентов рандомизировали на две группы: в исследуемой группе ($n = 15$) пациенты получали дарунавир/кобицистат в дополнение к ингаляции интерферона альфа-2b в течение 5 дней, а в контрольной группе ($n = 15$) — только интерферон альфа-2b. Первичной точкой эффективности был отрицательный результат ПЦР на 7-й день после рандомизации. Доля отрицательных результатов ПЦР на 7-е сутки составила 46,7 % (7/15) и 60,0 % (9/15) в исследуемой и контрольной группах ($p = 0,72$) соответственно. Через 14 дней после рандомизации у одного участника в исследуемой группе состояние ухудшилось до критического уровня, и он прекратил прием препарата, в то время как все пациенты контрольной группы были стабильны ($p = 1,0$). Частота нежелательных

явлений в обеих группах была сопоставима. Таким образом, дополнительный прием дарунавира и кобицистата существенно не увеличил долю ПЦР-отрицательных результатов, хотя лечение пациенты переносили хорошо [11].

Таким образом, ЛП отличается хорошей переносимостью, повышением выживаемости, но не имеет доказанного воздействия на подавление вируса SARS-CoV-2.

Лопинавир/ритонавир

Лопинавир — ингибитор протеазы против ВИЧ-1, который обычно вводят в сочетании с ритонавиром. Ритонавир — ингибитор цитохрома P450 3A, увеличивает период полувыведения лопинавира из плазмы. Ингибируя активность фермента, лекарства предотвращают протеолиз предшественников полипротеина Gag, который вызывает формирование незрелых, неинфекционных вирусных частиц [41].

Возможности использования лопинавира/ритонавира (ЛПВ/РТВ) посвящены клинические исследования S. Alhumaid и соавт. [4], 8 из которых были включены в метаанализ. Однако в большинстве из них не сообщалось о положительных результатах лечения при применении этих ЛП. Что касается времени полного клинического излечения (отсутствие вируса), в трех исследованиях авторы указывали на меньшее время в днях для его достижения у пациентов в группе ЛПВ/РТВ по сравнению с пациентами, которые не получали противовирусного лечения ($-0,81$ день; 95 % ДИ $-4,44-2,81$; $p = 0,007$). При этом общий эффект не был статистически значимым ($p = 0,66$). При сравнении результатов лечения пациентов, получавших умифеновир, положительный эффект наблюдался, но также не был статистически значимым ($p = 0,09$). Относительно времени до нормализации температуры тела и облегчения кашля, авторы заметили, что ЛПВ/РТВ не обладал какими-либо преимуществами по сравнению с умифеновиром. Результаты таких крупных клинических исследований, как RECOVERY [38] и SOLIDARITY [34], показали, что применение ЛПВ/РТВ не снижает смертность, потребность в инвазивной искусственной вентиляции легких (ИВЛ) или продолжительность госпитализации. В процессе применения ЛПВ/РТВ чаще сообщалось о побочных эффектах ($n = 84$) по сравнению с другими противовирусными ЛП и отсутствием противовирусного лечения. Обзор проведенных клинических исследований не выявил каких-либо значительных преимуществ использования ЛПВ/РТВ для лечения

COVID-19 по сравнению со стандартным лечением [4].

Обзор F. Verdugo-Paiva и соавт. [43] состоял из 12 исследований, включая два рандомизированных контролируемых исследования (РКИ), где оценивали добавление ЛПВ/РТВ к стандартному лечению COVID-19. Эти исследования показывают, что ЛПВ/РТВ могут снижать смертность (относительный риск — 0,77; 95 % ДИ 0,45–1,3), но ожидаемая величина абсолютного снижения смертности варьируется в разных группах риска. Применение ЛПВ/РТВ также способствовало снижению риска в необходимости ИВЛ, развития дыхательной недостаточности или ОРДС. Применение ЛПВ/РТВ не привело к какой-либо разнице в продолжительности госпитализации, но последовало увеличение числа общих побочных эффектов [43].

Результаты РКИ свидетельствуют об отсутствии положительных эффектов использования ЛПВ/РТВ и их плохой переносимости пациентами.

Осельтамивир

Осельтамивир — противовирусный препарат, подавляющий нейраминидазу. ЛП блокирует активность различных типов вирусов гриппа А и В. Фермент нейраминидазы, экспрессируемый на поверхности вируса, играет важную роль в проникновении вируса в клетки-хозяева, высвобождении вируса из инфицированных клеток и дальнейшем распространении в организме. Осельтамивир как ингибитор нейраминидазы предотвращает высвобождение вирионов, удерживает их прикрепленными к мембране ранее инфицированных клеток и впоследствии препятствует их распространению в организме [41].

Исследования клинических случаев применения осельтамивира в дозе 75 мг два раза в день показали, что он неэффективен против COVID-19, возможно, потому что вирус SARS-CoV-2 не содержит нейраминидазы [41].

Ретроспективное одноцентровое исследование D. Wang и соавт. [45] включало 138 госпитализированных пациентов с подтвержденным диагнозом внебольничной пневмонии, вызванной COVID-19. Все пациенты в этом клиническом исследовании получали антибактериальные ЛП, 90 % пациентов — противовирусную терапию и 45 % — метилпреднизолон. Доза осельтамивира и метилпреднизолона варьировала в зависимости от тяжести заболевания. Результаты, свидетельствующих об эффективности данной комбинации, получено не было [45].

Тем не менее S. Chiba [13] показал эффективность осельтамивира при его раннем

применении. В клиническом исследовании приняли участие 16 медицинских работников с подозрением на COVID-19 и члены их семей. У участников не было гипоксии, но была лихорадка. Критериями включения в исследование были температура $\geq 37,5$ °C, один или несколько респираторных симптомов (кашель, мокрота или боль в горле) и отрицательный результат ПЦР на грипп. Если пациенты получали лечение в течение 24 ч после начала лихорадки ($\geq 37,0$ °C), то это считалось ранним лечением ($n = 10$), через 24 ч после начала лихорадки — поздним лечением ($n = 6$). Пациенты также получали антибактериальные ЛП. Продолжительность лихорадки была статистически значимо короче у пациентов в группе раннего лечения, чем у пациентов в группе позднего лечения (31 ± 21 ч по сравнению с 94 ± 38 ч; $p < 0,001$). Время от пика до спада заболевания было также статистически значимо короче при раннем начале лечения, чем при позднем (24 ± 24 против 70 ± 50 ч; $p < 0,05$). Время от начала заболевания до пика заболевания также было короче при раннем начале лечения ($7-8$ ч против $24-16$ ч; $p < 0,05$). Сравнение максимальной температуры не показало статистически значимой разницы между группами ($38,1 \pm 0,6$ °C против $38,0 \pm 0,9$ °C; $p = 0,80$). Результаты исследования говорят о том, что раннее применение осельтамивира в сочетании с антибактериальной терапией может снизить продолжительность лихорадки у больных без гипоксии [13].

Таким образом, применение осельтамивира на раннем этапе может снизить продолжительность лихорадки и пика заболевания, однако его применение в разгар заболевания является неэффективным.

Умифеновир

Умифеновир — противовирусный ЛП широкого спектра действия. Вирусные гликопротеины, ответственные за слияние и клеточное распознавание, подвергаются воздействию умифеновира, который взаимодействует с их ароматическими остатками. Впоследствии умифеновир вмешивается в клатрин-опосредованный экзоцитоз через взаимодействие с плазматической мембраной или непосредственно интеркалируется в мембранные липиды, в частности, через ингибирование геммагглютинаина [41].

D. Huang и соавт. [23] провели анализ результатов клинического исследования по использованию умифеновира с целью оценки его эффективности и безопасности. Всего были проанализированы результаты 12 исследований с участием 1052 пациентов. Авторы

изучили как ретроспективные, так и проспективные исследования. В качестве первичной конечной точки рассматривали конверсию с положительного на отрицательный показатель нуклеиновой кислоты SARS-CoV-2. По этому признаку между пациентами, получающими арбидол, и пациентами в контрольной группе статистически значимой разницы не было обнаружено (стандартное отклонение (СО) 0,09; 95 % ДИ $-1,48-1,65$). Применение умифеновира не привело к увеличению доли отрицательных результатов ПЦР на 7-й день лечения (отношение риска (ОР) 1,09; 95 % ДИ 0,91–1,31), однако увеличило долю отрицательных результатов ПЦР на 14-й день лечения (ОР 1,27; 95 % ДИ 1,04–1,55). Между группами также не было статистически значимых различий по вторичным конечным точкам (снижение температуры тела, облегчение кашля и продолжительность госпитализации) (СО 1,34; 95 % ДИ $-2,08-4,76$) [23].

Эффективность умифеновира была показана в исследовании M. Nojomi и соавт. [33]. Это было открытое РКИ, в котором приняли участие 100 пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19. Пациентов рандомизировали на две группы: в первой группе ($n = 50$) пациенты получали гидроксихлорохин с последующим переходом на Калетру (ЛПВ/РТВ); во второй группе ($n = 50$) — гидроксихлорохин с последующим переходом на умифеновир. Около 6,7 % пациентов в первой группе нуждались в госпитализации в отделение интенсивной терапии (ОИТ) по сравнению с 18,6 % пациентов во второй группе. Продолжительность госпитализации у пациентов, получающих умифеновир, была статистически значимо меньше, чем у пациентов, получающих Калетру (7,2 против 9,6 дней; $p = 0,02$). Тяжесть заболевания, основанная на результатах компьютерной томографии (КТ) и рентгенографии грудной клетки, значительно различалась через 30 дней госпитализации, несмотря на почти одинаковую степень тяжести в день госпитализации. Умеренная пневмония (поражено 25–50 % легких) после проведения КТ была у 81 % пациентов, получающих умифеновир, и у 53,2 % — Калетру. После проведения рентгенографии этот показатель составил 96 и 67 % соответственно. Время до купирования лихорадки было почти одинаковым в двух группах (2,7 против 3,1 дня для умифеновира и Калетры соответственно). Периферическая кислородная сатурация статистически значимо различалась через 7 дней приема в двух группах (94 против 92 % для умифеновира и Калетры соответственно; $p = 0,02$). Авторы

пришли к выводу, что применение Арбидола приводило к улучшению клинических и лабораторных показателей [33].

Применение умифеновира может быть эффективно при его комбинировании с другими ЛП. Однако в большинстве РКИ умифеновир не показал эффективности в отношении увеличения доли отрицательных результатов ПЦР.

Фавипиравир

Фавипиравир был представлен в Японии для лечения новых или вновь появляющихся штаммов вирусов гриппа в 2014 г. Он подвергается внутриклеточному рибозилированию и фосфорилированию, активируется и включается в вирусную РНК посредством замены пуриновыми нуклеозидами. Впоследствии РНК-зависимая РНК-полимераза подвергается ингибированию, что предотвращает удлинение цепи РНК и вирусную пролиферацию [41].

Согласно анализу D.B. Shrestha и соавт. [39], применение фавипиравира у пациентов с SARS-CoV-2 приводит к улучшению клинических симптомов. Группа, где фавипиравир добавляли к стандартному лечению, рассматривалась как группа исследования, а стандартное лечение с другими противовирусными ЛП и поддерживающей терапией — как контрольная группа. Согласно полученным данным, на 14-й день лечения у пациентов, получающих фавипиравир, наблюдалось статистически значимое улучшение симптомов заболевания по сравнению с пациентами из контрольной группы (ОР = 1,29; 95 % ДИ 1,08–1,54). Ухудшение течения заболевания у пациентов в группе исследования наблюдалось реже, чем в контрольной группе, однако разница не была статистически значимой (ОШ = 0,59; 95 % ДИ 0,30–1,14). Метаанализ не выявил значительных различий между двумя группами в отношении элиминации вируса (день 14-й; ОР = 1,06; 95 % ДИ 0,84–1,33), необходимости в ИВЛ или кислородной поддержке (ОШ = 0,76; 95 % ДИ 0,42–1,39) и нежелательных явлений (ОШ = 0,6; 95 % ДИ 0,13–3,57).

Согласно анализу J.A. Siordia и соавт. [40], при применении фавипиравира наблюдается более быстрая элиминация вируса, чем при применении ЛПП/РТП и умифеновира.

В открытом контролируемом исследовании Q. Cai и соавт. [9] у пациентов, которые получали фавипиравир в дозе 1600 мг 2 раза в день в первый день и 600 мг 2 раза в день в дни 2–14-й ($n = 35$), время элиминации вируса было статистически значимо короче, чем

у пациентов, получающих ЛПП/РТП в дозе 400/100 мг в течение 14 дней ($n = 45$). Данный показатель составил 4 и 11 дней соответственно ($p < 0,001$) [9].

Полученные результаты демонстрируют, что использование фавипиравира приводит к более быстрой элиминации вируса по сравнению с другими ЛП, применяемыми для лечения COVID-19.

Ремдесивир

Ремдесивир представляет собой низкомолекулярное пролекарство монофосфорамидата и является аналогом аденозина, блокирующим РНК-зависимую РНК-полимеразу через свой нуклеозидный компонент. ЛП работает после проникновения вируса в клетку-хозяина [41].

J.H. Veigel и соавт. [6] провели двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование эффективности внутривенного введения ремдесивира у взрослых пациентов с диагнозом COVID-19 и наличием инфекции нижних дыхательных путей. В исследовании приняли участие 1062 пациента, из которых 541 получал внутривенно ремдесивир (нагрузочная доза 200 мг в 1-й день, затем 100 мг ежедневно в течение 9 дней), а 521 человек получал плацебо. Среднее время выздоровления у пациентов в группе ремдесивира составляло 10 дней (95 % ДИ 9–11), по сравнению с 15 днями у пациентов в группе плацебо. У пациентов, получавших ремдесивир, клиническое улучшение симптомов заболевания на 15-й день регистрировалось чаще, чем у пациентов, получавших плацебо, (ОШ = 1,5; 95 % ДИ 1,2–1,9). По критерию Каплана – Мейера, смертность на 15-й день лечения составила 6,7 % среди пациентов, получавших ремдесивир, и 11,9 % среди пациентов, получавших плацебо, 11,4 % для ремдесивира и 15,2 % для плацебо на 29-й день (ОШ = 0,73; 95 % ДИ 0,52–1,03). Серьезные нежелательные явления были зарегистрированы у 131 из 532 пациентов, получавших ремдесивир (24,6 %), и у 163 из 516 пациентов, получавших плацебо (31,6 %).

J. Grein и соавт. [18] провели анализ амбулаторных карт и историй болезней пациентов с диагнозом COVID-19, которые получали ремдесивир. Из 53 пациентов 22 находились в США, 22 — в Европе или Канаде и 9 — в Японии. В начале лечения 30 пациентов (57 %) находились на ИВЛ и 4 (8 %) — на экстракорпоральной мембранной оксигенации. В течение 18 дней у 36 пациентов (68 %) отмечалось улучшение в отношении показателей кислородного статуса, в том числе 17 из 30 пациентов (57 %), находившихся

на ИВЛ, были экстубированы. Всего было выписано 25 пациентов (47 %), 7 пациентов (13 %) умерли. Смертность составила 18 % (6 из 34) среди пациентов, находившихся на ИВЛ, и 5 % (1 из 19) среди тех, кто не находился на ИВЛ.

Ремдесивир — единственный ЛП, одобренный управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) для лечения COVID-19 [44]. Для пациентов с легким или умеренным течением заболевания применение ремдесивира не рекомендовано. Тем не менее для тех, кто нуждается в респираторной поддержке, применение ремдесивира сокращает время улучшения и снижает риск прогрессирования заболевания [49].

Таким образом, использование ремдесивира оправдано у пациентов с тяжелым течением заболевания.

Рибавирин

Как аналог гуанозина, рибавирин предотвращает репликацию РНК и ДНК вируса и ингибирует кэппинг РНК, что приводит к деградации РНК. Он также ингибирует инозинмонофосфатдегидрогеназу, что предотвращает образование естественного гуанозина [41].

Целью ретроспективного когортного исследования S. Tong и соавт. [42] являлось сравнение результатов лечения при применении рибавирина и поддерживающей терапии у пациентов с COVID-19. Авторы проанализировали истории болезней 115 пациентов с лабораторно подтвержденным COVID-19. Из 115 пациентов 44 получали рибавирин внутривенно (исследуемая группа), 71 — другое лечение (контрольная группа). Исходные лабораторные и клинические характеристики обеих групп были схожими. Время конверсии с положительного на отрицательный показатель нуклеиновой кислоты SARS-CoV-2 в группе рибавирина составило $12,8 \pm 4,1$ дня по сравнению с $14,1 \pm 3,5$ днями в контрольной группе ($p = 0,314$). В группе рибавирина умерли 7 из 41 пациента (17,1 %) по сравнению с 17 из 69 (24,6 %) в контрольной группе ($p = 0,475$). Это позволило исследователям сделать вывод, что у пациентов с тяжелой формой COVID-19 терапия рибавирином не привела к сокращению времени конверсии с положительного на отрицательный показатель нуклеиновой кислоты SARS-CoV-2 и не привела к снижению уровня смертности [42].

Применение препарата в качестве монотерапии недостаточно изучено и редко используется, но его можно применять как средство комбинированной терапии.

В многоцентровом проспективном открытым рандомизированном исследовании фазы 2 I.F. Hung и соавт. [25] оценивали эффективность тройной комбинации интерферона бета-1b, ЛПП/РТР и рибавирина. Пациентов рандомизировали на две группы: в первой группе получали комбинацию лопинавира в дозе 400 мг и ритонавира в дозе 100 мг, рибавирина в дозе 400 мг каждые 12 ч и трех доз 8 млн МЕ интерферона бета-1b через день (комбинированная группа, $n = 86$); во второй группе получали лопинавир в дозе 400 мг и ритонавир в дозе 100 мг каждые 12 ч (контрольная группа, $n = 41$). Длительность лечения составила 14 дней. Первичной конечной точкой было получение отрицательного результата ПЦР. Среднее время от начала лечения до получения отрицательного результата ПЦР было меньше у пациентов в комбинированной группе (7 дней [межквартильный размах 5–11]), чем у пациентов в контрольной группе (12 дней [межквартильный размах 8–15]; ОР = 4,37; 95 % ДИ 1,86–10,24; $p = 0,0010$).

Противомалярийные препараты

Хлорохин и гидроксихлорохин

Хлорохин и гидроксихлорохин — противомалярийные ЛП, подавляющие жизненно важные функции лизосом за счет повышения рН, что приводит к блокированию опосредованного эндосомами проникновения вируса [41].

В обзоре A. Elavarasi и соавт. [14], в который вошло 12 обсервационных и РКИ, авторы сделали вывод, что использование гидроксихлорохина и хлорохина не улучшает клинические исходы у пациентов с COVID-19. Метаанализ включенных исследований не выявил существенного снижения смертности при использовании гидроксихлорохина (ОР = 0,98; 95 % ДИ 0,66–1,46), времени до разрешения лихорадки (средняя разница — 0,54 дня) или клинического ухудшения/развития ОРДС (ОР = 0,90; 95 % ДИ 0,47–1,71). При этом при использовании гидроксихлорохина зафиксирован более высокий риск отклонений в электрокардиограмме (ОР = 1,46; 95 % ДИ 1,04–2,06) [14].

Большое РКИ P. Norby и соавт. [22] подтвердило, что назначение гидроксихлорохина и хлорохина не рекомендовано для лечения пациентов с COVID-19. Эти ЛП не ассоциировались со снижением уровня смертности и не влияли на скорость выздоровления.

15 июня 2020 г. FDA официально выступило с заявлением, что гидроксихлорохин и хлорохин не эффективны для лечения пациентов с COVID-19 [32].

Иммунодепрессанты

Анакинра

Анакинра представляет собой биологический рекомбинантный негликозилированный антагонист человеческого рецептора интерлейкина-1 (ИЛ-1) с коротким периодом полураспада и приемлемым профилем безопасности для нейтрализации гипервоспалительного заболевания, связанного с COVID-19, с тяжелым респираторным синдромом. ИЛ-1 играет важную роль в стимуляции выработки воспалительных цитокинов и TNF- α . Анакинра блокирует действие ИЛ-1, что приводит к подавлению воспалительных реакций [41].

В когортном исследовании T. Hue et соавт. [24] оценивали эффективность анакинры у пациентов с тяжелым респираторным синдромом, вызванным COVID-19. 54 пациента получали препарат в дозе 100 мг подкожно 2 раза в день в течение 72 ч, а затем в дозе 100 мг 1 раз в день в течение 7 дней вместе со стандартной схемой лечения, состоящей из пероральных средств (10-дневный курс гидроксихлорохина 600 мг/сут, 5-дневный курс азитромицина 250 мг/сут) и антибиотиков для внутривенного применения (цефтриаксон 1 г/сут или амоксициллин 3 г/сут) в течение 7 дней. 44 пациента находились только на стандартной схеме лечения. Некоторым пациентам внутривенно болюсно вводили метилпреднизолон в дозе 500 мг.

Согласно полученным данным, меньшее число пациентов, получавших анакинру, было госпитализировано в ОИТ и находилось на ИВЛ. В группе анакинры зафиксирована также меньшая смертность. Потребность в ИВЛ или летальный исход зарегистрировали у 13 (25 %) из 52 пациентов в группе анакинры в сравнении с 32 (73 %) из 44 пациентов в контрольной группе (ОР = 0,22; 95 % ДИ 0,11–0,41; $p < 0,001$). Аналогичные результаты наблюдали и по отдельности при оценке частоты летальных исходов (ОР = 0,3; 95 % ДИ 0,12–0,71; $p = 0,0063$) и потребности в ИВЛ (ОР = 0,22; 95 % ДИ 0,09–0,56; $p = 0,0015$). В группе анакинры у большего числа пациентов зафиксировано повышение уровня печеночных ферментов, чем у пациентов в контрольной группе [19].

G. Cavalli и соавт. [10] оценивали общую выживаемость, выживаемость у пациентов, не находящихся на ИВЛ, изменения уровня С-реактивного белка (СРБ), респираторную функцию и клинический статус у пациентов, которые получали дополнительное лечение анакинрой [либо 5 мг/кг два раза в день внутривенно (высокая доза), либо 100 мг два раза в день подкожно (низкая доза)]. Полученные

результаты сравнивали с ретроспективной когортой пациентов, которые не получали анакинры (группа стандартного лечения).

Через 21 день после начала клинического исследования применение высоких доз анакинры привело к снижению уровня СРБ и улучшению респираторной функции легких у 21 (72 %) из 29 пациентов; 5 (17 %) пациентов находились на ИВЛ и 3 (10 %) умерли. В группе стандартного лечения у 8 (50 %) из 16 пациентов наблюдалось улучшение респираторной функции легких через 21 день; 1 (6 %) пациент находился на ИВЛ и 7 (44 %) умерли. Через 21 день выживаемость составила 90 % в группе высокой дозы анакинры и 56 % — в группе стандартной терапии ($p = 0,009$). Выживаемость у пациентов, не находящихся на ИВЛ, составила 72 % в группе анакинры по сравнению с 50 % в группе стандартного лечения ($p = 0,15$). Бактериemia возникла у 4 (14 %) из 29 пациентов, получавших высокие дозы анакинры, и у 2 (13 %) из 16 пациентов, получавших стандартное лечение. Прекращение приема анакинры не сопровождалось рецидивами воспалительного процесса [6].

В открытом исследовании A. Aouba и соавт. [5] приняли участие 9 пациентов с умеренной и тяжелой пневмонией, вызванной COVID-19. Анакинру вводили подкожно в дозе 100 мг каждые 12 ч в течение 3 дней, затем в дозе 100 мг каждые 24 ч в течение 7 дней.

Только у одного пациента (женщина, 46 лет) после введения анакинры развилась острая дыхательная недостаточность, что привело к прекращению лечения и госпитализации в реанимацию. У остальных 8 пациентов наблюдалась положительная динамика. Уровень СРБ неуклонно снижался у всех пациентов (снижение произошло на 6-й день и не было выраженным) и нормализовался у 5 из 8 пациентов на 11-й день. КТ грудной клетки подтвердила прекращение развития очагов поражения. Пациенты, получавшие анакинру, были живы во время последнего наблюдения [3].

Следовательно, результаты проведенных клинических исследований свидетельствуют об эффективности использования анакинры в схеме лечения пациентов с COVID-19 при условии обеспечения постоянного лабораторного контроля за уровнем печеночных ферментов.

Бамланивимаб

Бамланивимаб — нейтрализующее моноклональное антитело IgG₁ против рецептор-связывающего домена спайкового белка SARS-CoV-2. Таким образом, это моноклональное антитело предотвращает вирусное прикрепление и проникновение SARS-CoV-2

в клетки-хозяина и, в результате, вирусную репликацию [41].

В ноябре 2020 г. FDA предоставило разрешение на экстренное применение бамланивимаба при легкой и средней степени тяжести COVID-19. ЛП показан только для взрослых и детей, находящихся на амбулаторном лечении, в возрасте от 12 лет и старше с положительным результатом ПЦР-теста, массой не менее 40 кг и имеющих повышенный риск прогрессирования заболевания до тяжелой формы COVID-19 и/или госпитализации. К другим показателям относятся возраст ≥ 65 лет и наличие хронического заболевания. Особое внимание уделяется незамедлительному введению бамланивимаба в течение 10 дней с момента появления симптомов или после положительного результата теста. Следует отметить, что этот ЛП не имеет разрешения на использование у пациентов, находящихся на стационарном лечении, или у пациентов, нуждающихся в кислородной поддержке [15].

Разрешение на экстренное использование этого исследуемого моноклонального антитела основано на результатах промежуточного анализа текущего РКИ фазы 2, в котором участвовали 452 пациента с COVID-19 легкой или средней степени тяжести. Лечение проходило амбулаторно. Из 452 пациентов 101 получил препарат в дозе 700 мг, 107 — в дозе 2800 мг, 101 — в дозе 7000 мг и 143 человека получили плацебо. Вирусная нагрузка значительно снизилась при приеме бамланивимаба в дозе 2800 мг по сравнению с пациентами в группе плацебо. Госпитализация, обращения в отделения неотложной помощи и число летальных исходов в течение 28 дней после лечения были значительно ниже в группе бамланивимаба, чем в группе плацебо [12].

Имеющиеся данные свидетельствуют о целесообразности применения бамланивимаба у пациентов, проходящих лечение в амбулаторных условиях. Однако необходимо дождаться окончания КИ и их полных результатов.

Бевацизумаб

Бевацизумаб действует против фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и показан для лечения рака. VEGF считается наиболее мощным индуктором проницаемости сосудов. Бевацизумаб связывается с VEGF и подавляет формирование неоваскуляризации, тем самым уменьшая рост опухоли. Последние данные свидетельствуют о высоком уровне VEGF у пациентов с COVID-19 по сравнению со здоровыми людьми из контрольной группы. Такие факторы, как гипоксия, тяжелое воспаление и активация инфицированного

эпителия дыхательных путей, вызывают повышение уровня VEGF. Многочисленные исследования подтвердили фундаментальную роль VEGF для потенциальной клинической цели при остром повреждении легких и ОРДС. Таким образом, использование бевацизумаба в качестве терапии против VEGF может предложить новый подход к лечению острого повреждения легких и ОРДС, вызванных COVID-19 [41].

Эффективность и безопасность бевацизумаба оценивали J. Pang и соавт. [35]. Исследователи набрали 26 пациентов с тяжелой формой COVID-19 и наблюдали за ними в течение 28 дней. Пациенты однократно получали бевацизумаб в дозе 500 мг в виде внутривенной инфузии в течение 90 мин. У пациентов регистрировали значительное увеличение индекса оксигенации (PaO_2/FiO_2) на 1-й и 7-й день после терапии бевацизумабом. Показатель кислородного статуса не ухудшился ни у одного пациента, случаев летального исхода в течение периода наблюдения не было. КТ грудной клетки или рентгеновские снимки показали значительное уменьшение площадей и соотношений поражений в течение 7 дней лечения. Лихорадка у больных исчезла через 3 дня. Наблюдалось увеличение количества периферических лимфоцитов со значительным снижением уровня СРБ. Повышение показателей функции печени было наиболее частым нежелательным явлением. Более 50 % пациентов выписали из больницы [35].

В отношении бевацизумаба было проведено 2 РКИ, результаты которых не опубликованы [7, 8].

Применение бевацизумаба может быть эффективно в отношении респираторного статуса пациента. Однако данный эффект продемонстрирован только в одном клиническом исследовании. Необходимо дождаться публикации полных результатов еще двух РКИ, чтобы сделать окончательный вывод о возможности использования ЛП в лечении пациентов с COVID-19.

Сарилумаб

Сарилумаб как гуманизированное моноклональное антитело ингибирует рецептор ИЛ-6 [41].

Е. Gremese и соавт. [19] провели наблюдательное исследование с участием 53 пациентов с COVID-19. Все пациенты получили внутривенную инфузию сарилумаба в дозе 400 мг в 1-й день и последующие 14 дней. Пациенты также получали другие препараты на основании решений врача. Так, 37 (69,8 %) пациентов одновременно получали дарунавир/

ритонавир, 13 (24,5 %) — ЛПВ/РТВ, при этом 3 (5,7 %) пациентов не получали противовирусного лечения. Более того, 50 (94,3 %) человек получали гидроксихлорохин, 45 (74,9 %) — гепарин в профилактической дозе и 29 (54,7 %) — азитромицин. Среди всей когорты 39 (73,6 %) пациентов лечились в палатах, 14 (26,4 %) получили свою первую дозу сарилумаба в ОИТ или в течение 24 ч после поступления в ОИТ.

По истечении 19 дней у 89,7 % пациентов значительно улучшилось общее состояние (у 46,1 % через 24 ч, у 61,5 % через 3 дня), 70,6 % были выписаны из больницы и 85,7 % не нуждались в кислородной поддержке. Среди пациентов, получавших сарилумаб в ОИТ, 64,2 % были выписаны из ОИТ в палату, а 35,8 % были живы на момент последнего наблюдения. Общая смертность составила 5,7 % [14].

Компании Sanofi и Regeneron провели многоцентровое двойное слепое исследование фазы 3 для оценки эффективности внутривенного введения сарилумаба в трех дозах. 161 пациент получал препарат в дозе 200 мг, 173 пациента — в дозе 400 мг, 86 пациентов — плацебо [29].

Введение сарилумаба не улучшало клинического течения и исходов заболевания на протяжении всего исследования при сравнении с результатами у пациентов в группе плацебо. У 24–29 % пациентов, получавших сарилумаб, и у 24 % из группы, наблюдались выраженные побочные эффекты. Серьезная инфекция развилась у 11–13 % пациентов в группе сарилумаба и у 12 % — в группе плацебо [44].

Результаты исследования, где сарилумаб применяли в качестве комбинированной терапии, не могут говорить об эффективности ЛП. При этом в клиническом исследовании, где его использовали как средство монотерапии, положительного эффекта не выявлено.

Тоцилизумаб/Олоклизумаб

Тоцилизумаб — конкурентный ингибитор передачи сигналов, опосредованной ИЛ-6. ИЛ-6 играет решающую роль в воспалении и иммунных ответах, а его сверхэкспрессия оказывает патологическое влияние на хроническое воспаление и аутоиммунитет [41].

В исследовании Р. Луо и соавт. [31] с участием 15 пациентов с COVID-19 8 пациентов получали тоцилизумаб в сочетании с преднизолоном, а 5 пациентов — только тоцилизумаб 2 раза в день или более. ЛП применяли в диапазоне доз от 80 до 600 мг в сутки.

После начала лечения у всех пациентов уровень ИЛ-6 в сыворотке крови снизился

по сравнению с исходным уровнем. Уровень СРБ быстро вернулся к норме, но для 4 пациентов, находящихся в критическом состоянии, которые приняли только одну дозу тоцилизумаба, снижение не было статистически значимым. Авторы сделали вывод, что тоцилизумаб эффективен при лечении пациентов с COVID-19 с риском развития цитокинового шторма [25].

Однако было представлено 2 клинических случая ухудшения течения заболевания, несмотря на снижение уровня СРБ после терапии тоцилизумабом. Следует отметить, что тоцилизумаб может ухудшать клиническое течение у больных, усиливая иммуносупрессию. Повышенный уровень ИЛ-6 может быть компенсаторным механизмом из ослабленного вирусного ответа. Поэтому снижение уровня ИЛ-6, вызванное тоцилизумабом, может способствовать усилению репликации вируса [37].

Согласно исследованию Х. Ху и соавт. [48], в котором принял участие 21 пациент с COVID-19, добавление тоцилизумаба в дозе 400 мг (до 800 мг) к стандартному лечению оказалось эффективным. В течение нескольких дней у пациентов существенно снизились симптомы заболевания. Уровень лимфоцитов вернулся к норме у 52,6 % пациентов. Кроме того, уровень ИЛ-6 и СРБ был значительно снижен у 90 % пациентов. Всех пациентов выписали в среднем через 15,1 дня после начала лечения тоцилизумабом.

Т. Klopfenstein и соавт. [28] оценивали эффект тоцилизумаба на смертность и/или необходимость в ИВЛ у 30 пациентов с тяжелой формой COVID-19. Группа сравнения состояла из 176 пациентов, не получавших тоцилизумаба. Это было ретроспективное исследование случай – контроль. Авторы сделали вывод, что лечение тоцилизумабом приводит к значительно более низкому уровню смертности и/или потребности в ИВЛ (27 и 52 % соответственно, $p = 0,009$).

Применение олоклизумаба продемонстрировало положительное влияние на клинические и лабораторные показатели в исследовании В.Н. Антонова и соавт. [1]. Прежде всего, это влияние ЛП на выраженность клинических показателей в виде улучшения общего состояния уже в первые сутки наблюдения, снижение температуры тела до нормальных значений.

Проведенные клинические исследования свидетельствуют об эффективности олоклизумаба. Тем не менее необходим постоянный мониторинг состояния пациента, так как в редких случаях ЛП могут привести к ухудшению течения заболевания.

Кортикостероиды

Кортикостероиды, включая глюкокортикоиды и минералокортикоиды, зарекомендовали себя как иммунодепрессанты и противовоспалительные ЛП для лечения таких состояний, как астма, аллергия, септический шок, рассеянный склероз и заболевания тканей легких. Однако использование этих ЛП ограничено их массивными вероятными побочными эффектами, такими как гипергликемия, гипертония, инфекция, остеопороз, задержка роста, атрофия кожи, глаукома и катаракта [41].

Исследование RECOVER направлено на оценку уровня смертности через 28 дней после начала лечения. В исследовании приняло участие 2104 пациента, получающих дексаметазон перорально или внутривенно в дозе 6 мг в день в течение 10 дней плюс стандартное лечение, и 4321 пациент, получающий только стандартное лечение. Согласно предварительному аналитическому отчету, из 6425 пациентов 22,9 % ($n = 482$) в группе дексаметазона и 25,7 % ($n = 1110$) в группе стандартной терапии умерли в течение 28 дней после рандомизации ($p < 0,001$). В группе дексаметазона регистрировали более низкий уровень смертности среди пациентов, которым требовалась ИВЛ (29,3 против 41,4 %) и кислородная поддержка (23,3 против 26,2 %) [21].

Всемирная организация здравоохранения провела оценку фактических данных, оценив связь между кортикостероидами и смертностью пациентов в критическом состоянии, инфицированных COVID-19. Метаанализ включает 7 исследований (DEXA-COVID 19, RECOVERY, REMAP-CAP, Code, CAPCOVID, COVIDSTEROID и Steroids-SARI). Из 1703 пациентов, участвовавших в исследовании, 678 получали кортикостероиды (3 РКИ дексаметазона, 3 РКИ гидрокортизона, 1 РКИ метилпреднизолона), 1025 получали стандартную терапию или плацебо. 222 пациента (32 %) в группе кортикостероидов и 425 пациентов (40 %) в группе стандартного лечения или плацебо умерли ($p < 0,001$) в течение 28 дней. Дексаметазон и гидрокортизон одинаково снижали смертность [46].

Q. Li и соавт. [30] оценивали эффект раннего введения кортикостероидов в низкой дозе в течение короткого срока у 475 госпитализированных пациентов с умеренной пневмонией (поражено 25–50 % легких), связанной с COVID-19. Метилпреднизолон в дозе 20 или 40 мг в сутки в течение 3–5 дней назначали внутривенно 50 пациентам, 5 пациентов получали преднизолон в дозе 20 мг в сутки в течение трех дней. 420 пациентов не получали кортикостероидную терапию [30].

По результатам клинического исследования у пациентов в группе кортикостероидов наблюдалось существенное увеличение продолжительности лихорадки, элиминации вируса и пребывания в больнице. У большого количества пациентов в группе кортикостероидов течение заболевания ухудшилось до тяжелого состояния. Таким образом, кортикостероидная терапия не рекомендована при умеренной пневмонии (поражение легких 25–50 %) [24].

В ретроспективном исследовании M.J. Keller и соавт. [26] также оценивали эффект раннего введения кортикостероидов на смертность и потребность в ИВЛ у 1806 стационарных пациентов с COVID-19. Из 1806 пациентов 140 получали кортикостероиды в течение первых 48 ч после поступления. Терапия кортикостероидами у пациентов с исходным уровнем СРБ 20 мг/л и более значительно снижала смертность или потребность в ИВЛ. Напротив, у пациентов с уровнем СРБ менее 10 мг/л смертность или потребность в ИВЛ увеличились [26].

В исследовании А.А. Чугунова и соавт. [3] у пациентов, принимавших метилпреднизолон, отмечалось уменьшение сроков купирования клинических проявлений и восстановление сатурации.

Таким образом, при применении глюкокортикостероидов отмечается снижение смертности у пациентов в тяжелом состоянии и потребности в ИВЛ, тогда как их использование у пациентов со среднетяжелым течением заболевания неэффективно и приводит к увеличению тяжести заболевания.

Заключение

Пандемия COVID-19 унесла много жизней во всем мире. В настоящее время исследователи изучают потенциальную роль более 60 ЛП для лечения этого заболевания.

Хотя в этой статье обобщены текущие данные, относящиеся к нескольким из основных исследуемых препаратов, используемых в клинических исследованиях для лечения пациентов с COVID-19, по состоянию на 15 августа 2021 г. зарегистрированных лекарств для лечения этого заболевания нет.

В статье представлен обзор результатов клинических исследований основных ЛП, которые в настоящее время активно изучаются на предмет потенциального лечения при COVID-19, с их возможными преимуществами и проблемами использования в клинической практике.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Антонов В.Н., Игнатов Г.Л., Прибыткова О.В. и др. Опыт применения олокизумаба у больных COVID-19 // *Терапевтический архив*. 2020. Т. 92, № 12. С. 148–154. DOI: 10.26442/00403660.2020.12.200522
2. Львов Д.К., Колобухина Л.В., Дерябин П.Г. Коронавирусная инфекция. Тяжелый острый респираторный синдром // *Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение*. 2015. № 4(13). С. 35–42.
3. Чугунов А.А., Салухов В.В., Данцева О.В. и др. Некоторые аспекты применения глюкокортикоидных препаратов в комплексном лечении новой коронавирусной инфекции // *Медицинский альянс*. 2021. Т. 9, № 1. С. 43–51. DOI: 10.36422/23076348-2021-9-1-43-51
4. Alhumaid S., Mutair A.A., Alawi Z.A. et al. Efficacy and safety of lopinavir/ritonavir for treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *Trop. Med. Infect. Dis.* 2020. Vol. 5, No. 4. P. 180. DOI: 10.3390/tropicalmed5040180
5. Aouba A., Baldolli A., Geffray L. et al. Targeting the inflammatory cascade with anakinra in moderate to severe COVID-19 pneumonia: case series // *Ann. Rheum. Dis.* 2020. Vol. 79, No. 10. P. 1381–1382. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-217706
6. Beigel J.H., Tomashek K.M., Dodd L.E. et al. Remdesivir for the treatment of Covid-19 – final report // *N. Engl. J. Med.* 2020. Vol. 383, No. 19. P. 1813–1826. DOI: 10.1056/NEJMoa2007764
7. ClinicalTrials.gov [Электронный ресурс]. Bevacizumab in severe or critically severe patients with COVID-19 pneumonia (BEST-CP). Режим доступа: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04275414?term=NCT04275414&draw=2&rank=1>. Дата обращения: 07.03.2021.
8. Islam M.A., Mazumder M.A., Akhter N. et al. Extraordinary survival benefits of severe and critical patients with COVID-19 by immune modulators: The outcome of a clinical trial in Bangladesh // *Euroasian J. Hepatogastroenterol.* 2020. Vol. 10, No. 2. P. 68–75. DOI: 10.5005/jp-journals-10018-1327
9. Cai Q., Yang M., Liu D. et al. Experimental treatment with favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study // *Engineering (Beijing)*. 2020. Vol. 6, No. 10. P. 1192–1198. DOI: 10.1016/j.eng.2020.03.007
10. Cavalli G., De Luca G., Campochiaro C. et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study // *Lancet Rheumatol.* 2020. Vol. 2, No. 6. P. e325–e331. DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30127-2
11. Chen J., Xia L., Liu L. et al. Antiviral activity and safety of darunavir/cobicistat for the treatment of COVID-19 // *Open Forum. Infect. Dis.* 2020. Vol. 7, No. 7. P. ofaa241. DOI: 10.1093/ofid/ofaa241
12. Chen P., Nirula A., Heller B. et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with COVID-19 // *N. Engl. J. Med.* 2021. Vol. 384, No. 3. P. 229–237. DOI: 10.1056/NEJMoa2029849
13. Chiba S. Effect of early oseltamivir on outpatients without hypoxia with suspected COVID-19 // *Wien. Klin. Wochenschr.* 2021. Vol. 133, No. 7–8. P. 292–297. DOI: 10.1007/s00508-020-01780-0
14. Elavarasi A., Prasad M., Seth T. et al. Chloroquine and hydroxychloroquine for the treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *J. Gen. Intern. Med.* 2020. Vol. 35, No. 11. P. 3308–3314. DOI: 10.1007/s11606-020-06146-w
15. FDA.gov [Электронный ресурс]. Fact sheet for Healthcare Providers: emergency Use Authorization (EUA) of Bamlanivimab. 2020. Режим доступа: <https://www.fda.gov/media/143603/download>. Дата обращения: 16.08.2021.
16. Gagneur A., Vallet S., Talbot P.J. et al. Outbreaks of human coronavirus in a paediatric and neonatal intensive care unit // *Eur. J. Pediatr.* 2008. Vol. 167, No. 12. P. 1427–1434. DOI: 10.1007/s00431-008-0687-0
17. Ge H., Wang X., Yuan X. et al. The epidemiology and clinical information about COVID-19 // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2020. Vol. 39, No. 6. P. 1011–1019. DOI: 10.1007/s10096-020-03874-z
18. Grein J., Ohmagari N., Shin D. et al. Compassionate use of remdesivir for patients with severe COVID-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020. Vol. 382, No. 24. P. 2327–2336. DOI: 10.1056/NEJMoa2007016
19. Gremese E., Cingolani A., Bosello S.L. et al. Sarilumab use in severe SARS-CoV-2 pneumonia // *E. Clinical Medicine.* 2020. Vol. 27. P. 100553. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100553
20. Harapan H., Itoh N., Yufika A. et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A literature review // *Infect. Public Health.* 2020. Vol. 13, No. 5. P. 667–673. DOI: 10.1016/j.jiph.2020.03.019
21. Horby P., Lim W.S., Emberson J.R. et al. Dexamethasone in hospitalized patients with COVID-19 // *N. Engl. J. Med.* 2021. Vol. 384, No. 8. P. 693–704. DOI: 10.1056/NEJMoa2021436
22. Horby P., Mafham M., Linsell L. et al. Effect of hydroxychloroquine in hospitalized patients with Covid-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020. Vol. 383, No. 21. P. 2030–2040. DOI: 10.1056/NEJMoa2022926
23. Huang D., Yu H., Wang T. et al. Efficacy and safety of umifenovir for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis // *J. Med. Virol.* 2021. Vol. 93, No. 1. P. 481–490. DOI: 10.1002/jmv.26256
24. Huet T., Beaussier H., Voisin O. et al. Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study // *Lancet Rheumatol.* 2020. Vol. 2, No. 7. P. e393–e400. DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30164-8
25. Hung I.F., Lung K.C., Tso E.Y. et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial // *Lancet.* 2020. Vol. 395, No. 10238. P. 1695–1704. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31042-4

26. Keller M.J., Kitsis E.A., Arora S. et al. Effect of systemic glucocorticoids on mortality or mechanical ventilation in patients with COVID-19 // *J. Hosp. Med.* 2020. Vol. 15, No. 8. P. 489–493. DOI: 10.12788/jhm.3497
27. Kim E.J., Choi S.H., Park J.S. et al. Use of darunavir-cobicistat as a treatment option for critically ill patients with SARS-CoV-2 infection // *Yonsei. Med. J.* 2020. Vol. 61, No. 9. P. 826–830. DOI: 10.3349/ymj.2020.61.9.826
28. Klopfenstein T., Zayet S., Lohse A.S. et al. Impact of tocilizumab on mortality and/or invasive mechanical ventilation requirement in a cohort of 206 COVID-19 patients // *Int. J. Infect. Dis.* 2020. Vol. 99. P. 491–495. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.08.024
29. Lescure F.X., Honda H., Fowler R.A. et al. Sarilumab COVID-19 Global Study Group. Sarilumab in patients admitted to hospital with severe or critical COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial // *Lancet Respir. Med.* 2021. Vol. 9, No. 5. P. 522–532. DOI: 10.1016/S2213-2600(21)00099-0
30. Li Q., Li W., Jin Y. et al. Efficacy evaluation of early, low-dose, short-term corticosteroids in adults hospitalized with non-severe COVID-19 pneumonia: a retrospective cohort study // *Infect. Dis. Ther.* 2020. Vol. 9, No. 4. P. 823–836. DOI: 10.1007/s40121-020-00332-3
31. Luo P., Liu Y., Qiu L. et al. Tocilizumab treatment in COVID-19: A single center experience // *J. Med. Virol.* 2020. Vol. 92, No. 7. P. 814–818. DOI: 10.1002/jmv.25801
32. Memorandum Explaining Basis for Revocation of Emergency Use Authorization for Emergency Use of Chloroquine Phosphate and Hydroxychloroquine Sulfate. FDA. 2021.
33. Nojomi M., Yassin Z., Keyvani H. et al. Effect of Arbidol (Umifenovir) on COVID-19: a randomized controlled trial // *BMC Infect. Dis.* 2020. Vol. 20, No. 1. P. 954. DOI: 10.1186/s12879-020-05698-w
34. Pan H., Peto R., Henao-Restrepo A.M. et al. Repurposed antiviral drugs for Covid-19 – interim WHO solidarity trial results // *N. Engl. J. Med.* 2021. Vol. 384, No. 6. P. 497–511. DOI: 10.1056/NEJMoa2023184
35. Pang J., Xu F., Aondio G. et al. Efficacy and tolerability of bevacizumab in patients with severe COVID-19 // *Nat. Commun.* 2021. Vol. 12, No. 1. P. 814. DOI: 10.1038/s41467-021-21085-8
36. Principi N., Bosis S., Esposito S. Effects of coronavirus infections in children // *Emerg. Infect. Dis.* 2010. Vol. 16, No. 2. P. 183–188. DOI: 10.3201/eid1602.090469
37. Radel J., Narayanan N., Bhatt P.J. Use of tocilizumab for COVID-19-induced cytokine release syndrome: a cautionary case report // *Chest.* 2020. Vol. 158, No. 1. P. e15–e19. DOI: 10.1016/j.chest.2020.04.024
38. RECOVERY Collaborative Group. Lopinavir-ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial // *Lancet.* 2020. Vol. 396, No. 10259. P. 1345–1352. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32013-4
39. Shrestha D.B., Budhathoki P., Khadka S. et al. Favipiravir versus other antiviral or standard of care for COVID-19 treatment: a rapid systematic review and meta-analysis // *Virol. J.* 2020. Vol. 17, No. 1. P. 141. DOI: 10.1186/s12985-020-01412-z
40. Siordia J.A.Jr., Bernaba M., Yoshino K. et al. Systematic and statistical review of coronavirus disease 19 treatment trials // *SN Compr. Clin. Med.* 2020. No. 2. P. 1120–1131. DOI: 10.1007/s42399-020-00399-6
41. Tarighi P., Eftekhari S., Chizari M. et al. A review of potential suggested drugs for coronavirus disease (COVID-19) treatment // *Eur. J. Pharmacol.* 2021. Vol. 895. P. 173890. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.173890
42. Tong S., Su Y., Yu Y. et al. Ribavirin therapy for severe COVID-19: a retrospective cohort study // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2020. Vol. 56, No. 3. P. 106114. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106114
43. Verdugo-Paiva F., Izcovich A., Ragusa M., Rada G. Lopinavir-ritonavir for COVID-19: A living systematic review // *Medwave.* 2020. Vol. 20, No. 6. P. e7967. DOI: 10.5867/medwave.2020.06.7966
44. FDA.gov [Электронный ресурс]. Veklury (remdesivir) EUA Letter of Approval, reissued 2020 Nov 22. Период доступа: <https://www.fda.gov/media/143188/download>. Дата обращения: 16.08.2021.
45. Wang D., Hu B., Hu C. et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China // *JAMA.* 2020. Vol. 323, No. 11. P. 1061–1069. DOI: 10.1001/jama.2020.1585
46. WHO Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 Therapies (REACT) Working Group. Association between administration of systemic corticosteroids and mortality among critically ill patients with COVID-19: A meta-analysis // *JAMA.* 2020. Vol. 324, No. 13. P. 1330–1341. DOI: 10.1001/jama.2020.17023
47. Wu C., Liu Y., Yang Y. et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods // *Acta. Pharm. Sin. B.* 2020. Vol. 10, No. 5. P. 766–788. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.02.008
48. Xu X., Han M., Li T. et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020. Vol. 117, No. 20. P. 10970–10975. DOI: 10.1073/pnas.2005615117
49. Young B., Tan T.T., Leo Y.S. The place for remdesivir in COVID-19 treatment // *Lancet Infect. Dis.* 2021. Vol. 21, No. 1. P. 20–21. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30911-7

References

1. Antonov VN, Ignatov GL, Pribytkova OV, et al. Experience of olokizumab use in COVID-19 patients. *Therapeutic Archive.* 2020;92(12):148–154. (In Russ.). DOI: 10.26442/00403660.2020.12.200522
2. L'vov DK, Kolobukhina LV, Deryabin PG. Coronavirus infection. severe acute respiratory syndrom. *Infectious Diseases: News, Views, Education.* 2015;(4(13)):35–42. (In Russ).
3. Chugunov AA, Salukhov VV, Dantseva OV, et al. Some aspects of application glucocorticoid drugs in the complex treatment of new coronaviral infec-

- tion. *Medical Alliance*. 2021;9(1):43–51. (In Russ). DOI: 10.36422/23076348-2021-9-1-43-51
4. Alhumaid S, Mutair AA, Alawi ZA, et al. Efficacy and safety of lopinavir/ritonavir for treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Trop Med Infect Dis*. 2020;5(4):180. DOI: 10.3390/tropicalmed5040180
 5. Aouba A, Baldolli A, Geffray L, et al. Targeting the inflammatory cascade with anakinra in moderate to severe COVID-19 pneumonia: case series. *Ann Rheum Dis*. 2020;79(10):1381–1382. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-217706
 6. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, et al. Remdesivir for the Treatment of COVID-19 – Final Report. *N Engl J Med*. 2020;383(19):1813–1826. DOI: 10.1056/NEJMoa2007764
 7. ClinicalTrials.gov [Internet]. Bevacizumab in severe or critically severe patients with COVID-19 pneumonia (BEST-CP). Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04275414?term=NCT04275414&draw=2&rank=1>. Accessed: 2021 Mar 7.
 8. Islam MA, Mazumder MA, Akhter N, et al. Extraordinary survival benefits of severe and critical patients with COVID-19 by immune modulators: The outcome of a clinical trial in Bangladesh. *Euroasian J Hepatogastroenterol*. 2020;10(2):68–75. DOI:10.5005/jp-journals-10018-1327
 9. Cai Q, Yang M, Liu D, et al. Experimental treatment with favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering (Beijing)*. 2020;6(10):1192–1198. DOI: 10.1016/j.eng.2020.03.007
 10. Cavalli G, De Luca G, Campochiaro C, et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: a retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020;2(6):e325–e331. DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30127-2
 11. Chen J, Xia L, Liu L, et al. antiviral activity and safety of darunavir/cobicistat for the treatment of COVID-19. *Open Forum Infect Dis*. 2020;7(7):ofaa241. DOI: 10.1093/ofid/ofaa241
 12. Chen P, Nirula A, Heller B, et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;384(3):229–237. DOI: 10.1056/NEJMoa2029849
 13. Chiba S. Effect of early oseltamivir on outpatients without hypoxia with suspected COVID-19. *Wien Klin Wochenschr*. 2021;133(7–8):292–297. DOI: 10.1007/s00508-020-01780-0
 14. Elavarasi A, Prasad M, Seth T, et al. Chloroquine and hydroxychloroquine for the treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Gen Intern Med*. 2020;35(11):3308–3314. DOI: 10.1007/s11606-020-06146-w
 15. FDA.gov [Internet]. Fact sheet for Healthcare Providers: emergency Use Authorization (EUA) of Bamlanivimab. 2020. Available from: <https://www.fda.gov/media/143603/download>. Accessed: 2021 Aug 16.
 16. Gagneur A, Vallet S, Talbot PJ, et al. Outbreaks of human coronavirus in a paediatric and neonatal intensive care unit. *Eur J Pediatr*. 2008;167(12):1427–1434. DOI: 10.1007/s00431-008-0687-0
 17. Ge H, Wang X, Yuan X, et al. The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(6):1011–1019. DOI: 10.1007/s10096-020-03874-z
 18. Grein J, Ohmagari N, Shin D, et al. Compassionate use of remdesivir for patients with severe COVID-19. *N Engl J Med*. 2020;382(24):2327–2336. DOI: 10.1056/NEJMoa2007016
 19. Gremese E, Cingolani A, Bosello SL, et al. Sarilumab use in severe SARS-CoV-2 pneumonia. *E Clinical Medicine*. 2020;27:100553. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100553
 20. Harapan H, Itoh N, Yufika A, et al. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): A literature review. *Infect Public Health*. 2020;13(5):667–673. DOI: 10.1016/j.jiph.2020.03.019
 21. Horby P, Lim WS, Emberson JR, et al. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021;384(8):693–704. DOI: 10.1056/NEJMoa2021436
 22. Horby P, Mafham M, Linsell L, et al. Effect of hydroxychloroquine in hospitalized patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(21):2030–2040. DOI: 10.1056/NEJMoa2022926
 23. Huang D, Yu H, Wang T, et al. Efficacy and safety of umifenovir for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol*. 2021;93(1):481–490. DOI: 10.1002/jmv.26256
 24. Huet T, Beaussier H, Voisin O, et al. Anakinra for severe forms of COVID-19: a cohort study. *Lancet Rheumatol*. 2020;2(7):e393–e400. DOI: 10.1016/S2665-9913(20)30164-8
 25. Hung IF, Lung KC, Tso EY, et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet*. 2020;395(10238):1695–1704. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31042-4
 26. Keller MJ, Kitsis EA, Arora S, et al. Effect of systemic glucocorticoids on mortality or mechanical ventilation in patients with COVID-19. *J Hosp Med*. 2020;15(8):489–493. DOI: 10.12788/jhm.3497
 27. Kim EJ, Choi SH, Park JS, et al. Use of darunavir-cobicistat as a treatment option for critically ill patients with SARS-CoV-2 infection. *Yonsei Med J*. 2020;61(9):826–830. DOI: 10.3349/ymj.2020.61.9.826
 28. Klopfenstein T, Zayet S, Lohse AS, et al. Impact of tocilizumab on mortality and/or invasive mechanical ventilation requirement in a cohort of 206 COVID-19 patients. *Int J Infect Dis*. 2020;99:491–495. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.08.024
 29. Lescure FX, Honda H, Fowler RA, et al. Sarilumab COVID-19 Global Study Group. Sarilumab in patients admitted to hospital with severe or critical COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Respir Med*. 2021;9(5):522–532. DOI: 10.1016/S2213-2600(21)00099-0
 30. Li Q, Li W, Jin Y, et al. Efficacy evaluation of early, low-dose, short-term corticosteroids in adults hospitalized

- with non-severe COVID-19 pneumonia: a retrospective cohort study. *Infect Dis Ther.* 2020;9(4):823–836. DOI: 10.1007/s40121-020-00332-3
31. Luo P, Liu Y, Qiu L, et al. Tocilizumab treatment in COVID-19: A single center experience. *J Med Virol.* 2020;92(7):814–818. DOI: 10.1002/jmv.25801
 32. Memorandum Explaining Basis for Revocation of Emergency Use Authorization for Emergency Use of Chloroquine Phosphate and Hydroxychloroquine Sulfate. FDA. 2021.
 33. Nojomi M, Yassin Z, Keyvani H, et al. Effect of Arbidol (Umifenovir) on COVID-19: a randomized controlled trial. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):954. DOI: 10.1186/s12879-020-05698-w
 34. Pan H, Peto R, Henaio-Restrepo AM, et al. Repurposed antiviral drugs for Covid-19 – interim WHO solidarity trial results. *N Engl J Med.* 2021;384(6):497–511. DOI: 10.1056/NEJMoa2023184
 35. Pang J, Xu F, Aondio G, et al. Efficacy and tolerability of bevacizumab in patients with severe COVID-19. *Nat Commun.* 2021;12(1):814. DOI: 10.1038/s41467-021-21085-8
 36. Principi N, Bosis S, Esposito S. Effects of coronavirus infections in children. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(2):183–188. DOI: 10.3201/eid1602.090469
 37. Radel J, Narayanan N, Bhatt PJ. Use of tocilizumab for COVID-19-induced cytokine release syndrome: a cautionary case report. *Chest.* 2020;158(1):e15–e19. DOI: 10.1016/j.chest.2020.04.024
 38. RECOVERY Collaborative Group. Lopinavir-ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet.* 2020;396(10259):1345–1352. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32013-4
 39. Shrestha DB, Budhathoki P, Khadka S, et al. Favipiravir versus other antiviral or standard of care for COVID-19 treatment: a rapid systematic review and meta-analysis. *Virol J.* 2020;17(1):141. DOI: 10.1186/s12985-020-01412-z
 40. Siordia JA Jr, Bernaba M, Yoshino K, et al. Systematic and statistical review of coronavirus disease 19 treatment trials. *SN Compr Clin Med.* 2020(2):1120–1131. DOI: 10.1007/s42399-020-00399-6
 41. Tarighi P, Eftekhari S, Chizari M, et al. A review of potential suggested drugs for coronavirus disease (COVID-19) treatment. *Eur J Pharmacol.* 2021;895:173890. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.173890
 42. Tong S, Su Y, Yu Y, et al. Ribavirin therapy for severe COVID-19: a retrospective cohort study. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;56(3):106114. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106114
 43. Verdugo-Paiva F, Izcovich A, Ragusa M, Rada G. Lopinavir-ritonavir for COVID-19: A living systematic review. *Medwave.* 2020;20(6):e7967. DOI: 10.5867/medwave.2020.06.7966
 44. FDA.gov [Internet]. Veklury (remdesivir) EUA Letter of Approval, reissued 2020 Nov 22. Available from: <https://www.fda.gov/media/143188/download>. Accessed: 2021 Aug 16.
 45. Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020;323(11):1061–1069. DOI: 10.1001/jama.2020.1585
 46. WHO Rapid Evidence Appraisal for COVID-19 Therapies (REACT) Working Group. Association between administration of systemic corticosteroids and mortality among critically ill patients with COVID-19: A meta-analysis. *JAMA.* 2020;324(13):1330–1341. DOI: 10.1001/jama.2020.17023
 47. Wu C, Liu Y, Yang Y, et al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharm Sin B.* 2020;10(5):766–788. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.02.008
 48. Xu X, Han M, Li T, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020;117(20):10970–10975. DOI: 10.1073/pnas.2005615117
 49. Young B, Tan TT, Leo YS. The place for remdesivir in COVID-19 treatment. *Lancet Infect Dis.* 2021;21(1):20–21. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30911-7

■ Информация об авторах

Ярослав Евгеньевич Широков — аспирант кафедры управления и экономики фармации. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: yshirobokov@gmail.com

Елена Павловна Гладунова — доктор фармацевтических наук, профессор кафедры управления и экономики фармации, доцент. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: epg87@mail.ru

Елена Александровна Бородулина — доктор медицинских наук, заведующая кафедрой фтизиатрии и пульмонологии, профессор. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: borodulinbe@yandex.ru

■ Information about the authors

Yaroslav E. Shirobokov — Postgraduate student, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: yshirobokov@gmail.com

Elena P. Gladunova — Doctor of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor, Professor, Department of Management and Economics of Pharmacy. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: epg87@mail.ru

Elena A. Borodulina — Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Phthisiology and Pulmonology. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: borodulinbe@yandex.ru

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ТКАНЯХ ПЛАЦЕНТЫ И ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК ПРИ ДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

М.А. Каганова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Каганова М.А. Особенности экспрессии генов врожденного иммунитета в тканях плаценты и плодных оболочек при доношенной беременности // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 191–199. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.191-199>

Поступила: 28.07.2021

Одобрена: 25.08.2021

Принята: 06.09.2021

▪ **Цель** — оценить уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте и плодных оболочках при доношенной физиологически протекающей беременности, без признаков начала родовой деятельности.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе ГБУЗ ГKB № 1 им. Н.И. Пирогова (Самара), в него были включены 15 беременных в сроке гестации 37–41 нед. без сопутствующей соматической патологии, обострения хронических и острых воспалительных заболеваний, акушерских осложнений (признаки плацентарной недостаточности, преэклампсии). Все пациентки были родоразрешены в плановом порядке путем кесарева сечения, показаниями к которому стали неправильное положение и предлежание плода. Уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* определялся методом обратной транскрипции и полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени на базе лаборатории молекулярно-генетических методов ООО «НПО ДНК-Технология» с использованием набора реагентов «Проба-НК».

Результаты. Получены данные об особенностях экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте и плодных оболочках при доношенной беременности. Выявлены прямые корреляции между продукцией *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* плодных оболочек и *TLR2* плаценты. Выработка *TLR4* и *TLR7* не была связана с продукцией вышеречисленных *TLRs*. Выявлены значимые различия у беременных с воспалительными и инволютивно-дистрофическими изменениями в плаценте и уровнем экспрессии *TLR4*.

Заключение. При физиологически протекающей беременности равномерно происходит экспрессия генов Toll-подобных рецепторов (*TLRs*) в тканях фетоплацентарного комплекса, существуют положительные корреляции между экспрессией *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* плодных оболочек и *TLR2* плаценты, а также ее массой. Наиболее значимым индикатором воспалительного процесса является содержание *TLR4* в плаценте.

▪ **Ключевые слова:** мРНК; toll-подобные рецепторы; полимеразная цепная реакция; беременность; плацента.

GENE EXPRESSION OF THE CONGENITAL IMMUNITY IN TISSUES OF THE PLACENTA AND FETAL MEMBRANES IN FULL-TERM PREGNANCY

М.А. Каганова

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Kaganova MA. Gene expression of the congenital immunity in tissues of the placenta and fetal membranes in full-term pregnancy. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):191–199. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.191-199>

Received: 28.07.2021

Revised: 25.08.2021

Accepted: 06.09.2021

▪ **AIM:** To assess the level of expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* genes in the placenta and fetal membranes during full-term physiological pregnancy, without signs of onset of labor.

MATERIALS AND METHODS: The study was carried out at the premises of City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov (Samara), and included 15 pregnant women at 37–41 weeks of gestation without somatic pathology,

exacerbation of chronic and acute inflammatory diseases, obstetric complications (placental insufficiency, preeclampsia). All patients were delivered by elective caesarean section due to fetal malposition. The level of expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* genes was determined by reverse transcription and real-time PCR (RT-PCR) on the basis of the laboratory of “NPO DNA-Technology” using a set of reagents “Proba NK”.

RESULTS: The data on the features of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* expression in the placenta and membranes during full-term pregnancy were obtained. Direct correlations were found between the production of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* of the fetal membranes and *TLR2* of the placenta. The expression of placental *TLR4* and *TLR7* was not associated with the production of the *TLRs*. Significant differences were revealed in pregnant women with inflammatory and involutive-dystrophic changes in the placenta and the level of *TLR4* expression.

CONCLUSIONS: The expression of the Toll-like receptors (*TLRs*) in the tissues of the fetoplacental complex occurs uniformly during physiological pregnancy. There are positive correlations between the expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* of the fetal membranes and *TLR2* of the placenta, as well as its mass. The most significant indicator of the inflammatory process is the placental expression of *TLR4*.

▪ **Keywords:** mRNA; toll-like receptors; polymerase chain reaction; pregnancy; placenta.

Нарушение иммунной функции плаценты лежит в основе большинства акушерских осложнений и «больших» акушерских синдромов [10]. Само по себе возникновение, прогрессирование беременности и ее окончание, то есть рождение ребенка, связано с каскадом не только гормон-опосредованных изменений, но и, в первую очередь, иммунологических реакций. Соответственно, актуальным стало исследование особенности экспрессии генов врожденного иммунитета в норме и при патологии в различные сроки беременности.

Одни из наиболее важных рецепторов врожденного иммунитета — Toll-подобные рецепторы (*TLRs*). Они относятся к семейству паттерн-распознающих рецепторов (*PRRs*) и осуществляют распознавание молекулярных структур различных микроорганизмов, обеспечивая быструю реакцию клетки. Несмотря на то что у ряда организмов идентифицированы функциональные *TLR*, их биологическая роль и механизмы функционирования до конца не изучены. У человека выделено 10 *TLR* [4, 23].

В зависимости от локализации *TLRs* условно разделены на две подгруппы: *TLRs*, которые локализируются на цитоплазматической мембране клетки (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR10*), и *TLRs*, которые локализируются и проявляют свою активность на мембранах внутриклеточных везикул, таких как лизосомы, эндосомы, эндоплазматический ретикулум (*TLR3*, *TLR7*, *TLR8*, *TLR9*) [4]. *TLR2*, *TLR4* и *TLR6* функционируют в качестве основных врожденных датчиков у млекопитающих для распознавания клеточной стенки компонентов грамотрицательных бактерий. Внутриклеточные *TLR3* распознают вирусную двухцепочечную РНК, а *TLR7*, *TLR8*, *TLR9* — нуклеиновые кислоты. Рецепторы клеточной мембраны, такие как *TLR4*, свя-

зывают эндотоксин (липополисахарид) грамотрицательных бактерий, активация которого сопровождается экспрессией генов цитокинов и других сигнальных пептидов, что позволяет выделить его ключевую роль в реализации реакций врожденного иммунитета; *TLR5* распознает бактериальные белки жгутиков; рецептор *TLR2* уникален своей способностью образовывать гетеродимеры с *TLR1* и *TLR6* на поверхности цитоплазматической мембраны. Большинство *TLRs* экспрессируются иммунными клетками — макрофагами, моноцитами, нейтрофилами, лейкоцитами, тучными и дендритными клетками, которыми богата плацента. Кроме того, *TLRs* также играют ключевую роль в патогенезе асептического воспаления, посредством активации через эндогенные лиганды, высвобождающиеся при повреждении клеток (так называемых молекулярных паттернов, связанных с повреждением, — damage associated molecular patterns, DAMPs). Аналогично PAMPs (pathogen associated molecular patterns), DAMPs активируют внутриклеточный путь сигнализации с последующим синтезом провоспалительных цитокинов и формированием типичной тканевой воспалительной реакции [2, 23]. *TLR* могут обеспечивать механизм продукции цитокинов на границе раздела матери и плода не только в нормальных физиологических аспектах беременности, но и при ее осложнениях, например, преждевременных родах, связанных с инфекцией [9].

Плацента содержит специфические для беременности компоненты врожденной иммунной системы, потому что она представляет собой физический и иммунологический барьер от проникновения инфекционных агентов, в том числе и за счет активности *TLR*. Транскрипты *TLR1–10* были идентифицированы в плаценте как при доношенной, так

и при недоношенной беременности. В ткани плаценты при доношенной беременности, включая клетки Хофбауэра, в норме экспрессируются гены *TLR2*, *TLR3* и *TLR4* [22, 28]. По данным других авторов, для доношенной беременности также характерна продукция *TLR6* [9, 24].

Большинство исследований посвящено стимуляции плацент бактериальными лигандами *in vitro* [11, 17, 24]. Процессам, происходящим в плаценте непосредственно перед родами или в родах, посвящено не так много работ. Уникальность представленного нами исследования состоит в том, что определены мРНК генов *TLR* во время элективного кесарева сечения, то есть оценен потенциал продукции *TLR in vivo*. Это позволяет продемонстрировать состояние Toll-рецепторов в плаценте при физиологически протекающей доношенной беременности.

Цель — оценить уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте при доношенной физиологически протекающей беременности, без признаков начала родовой деятельности.

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе родильных отделений ГБУЗ «Городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова» (Самара), в него были включены 15 беременных в сроке гестации 37–41 нед. Все пациентки были родоразрешены в плановом порядке путем кесарева сечения, показаниями к которому стали неправильное положение и предлежание плода.

Критерии исключения:

1. Беременные, относящиеся к группе высокого риска, по соматической патологии (сахарный диабет, гестационный диабет), особенностям плацентации и акушерским осложнениям (преэклампсия, синдром задержки развития плода).
2. Наличие острых и обострение хронических воспалительных заболеваний, в том числе наличие кольпита.
3. Применение антибактериальной терапии во время беременности.

Всем пациенткам было выполнено исследование образца плаценты и плодных оболочек методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени (ОТ-ПЦР) на базе лаборатории молекулярно-генетических методов ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия) согласно инструкциям производителя с использованием набора реагентов «Проба-НК» с дополнительной фенольной депротеинизацией. Определяли

уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7*. Забор образца плаценты и плодных оболочек проводили в стерильных условиях во время кесарева сечения, в пределах операционного поля. Забор плаценты выполняли посередине расстояния от места прикрепления пуповины до наиболее отдаленной точки края плаценты, с помощью конхотома с диаметром рабочей поверхности 9,4 мм отсекали стандартный образец ткани плаценты, с захватом участка из глубины плаценты (с предварительным отсечением амниона, хорионической пластинки и децидуальной ткани с материнской стороны). Забор плодных оболочек проводили посередине между плацентой и внутренним зевом, с помощью стерильного конхотома с диаметром рабочей поверхности 9,4 мм отсекали стандартный образец плодных оболочек. Полученные образцы помещали в «эппендорфы» с транспортной средой («Проба-НК» производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

Результаты обрабатывали с помощью программы MS Excel на основании данных, полученных с помощью детектирующих амплификаторов DTprime. Использован метод сравнения индикаторных циклов (метод ΔCq). Уровень экспрессии генов измеряли в относительных единицах (ОЕ), отражающих представленность транскрипта относительно нормировочного фактора, рассчитанного на основе уровня экспрессии мРНК референсного гена (*B2M*).

Все женщины дали письменное согласие, исследование было одобрено комитетом по биоэтике СамГМУ (протокол № 207 от 20 мая 2020 г.). Гестационный возраст рассчитывали по ультразвуковому исследованию или по первому дню последней менструации.

Морфологическое исследование плаценты проводили после фиксирования тканевых структур в формалине в течение суток, промывки материала проточной водой в течение 1,5–2 ч. Затем материал подвергали дальнейшему уплотнению путем обезвоживания в спирте и заливали гистологические срезы в парафин. После проведения вышеперечисленных этапов материал разрезали на тонкие срезы и накладывали на обезжиренное предметное стекло, с окрашиванием в дальнейшем гематоксилином и эозином. Выявляли признаки и степень инфицирования, признаки плацентарной недостаточности, инволютивно-дистрофические изменения.

Полученные статистические данные обработаны при помощи компьютерной программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Определяли вид распределения данных с помощью теста Шапиро – Уилка. Описательная

Таблица 1 / Table 1

Уровень экспрессии генов *TLR* в плодных оболочках и плаценте при физиологически протекающей доношенной беременности

TLR gene expression level in fetal membranes and placenta during physiological full-term pregnancy

| Показатель | Плодные оболочки | | Плацента | | Критерий Манна - Уитни |
|-------------|------------------|--------------------------------|----------|--------------------------------|------------------------|
| | Me | Q ₁ -Q ₃ | Me | Q ₁ -Q ₃ | |
| <i>TLR2</i> | 0,00592 | 0,00340-0,01184 | 0,00729 | 0,00240-0,01458 | Z = 0,00; p = 1,00 |
| <i>TLR4</i> | 0,00709 | 0,00224-0,01136 | 0,00709 | 0,00560-0,00897 | Z = 0,55; p = 0,58 |
| <i>TLR7</i> | 0,00195 | 0,00098-0,00542 | 0,00465 | 0,00364-0,00515 | Z = 2,21; p = 0,02 |

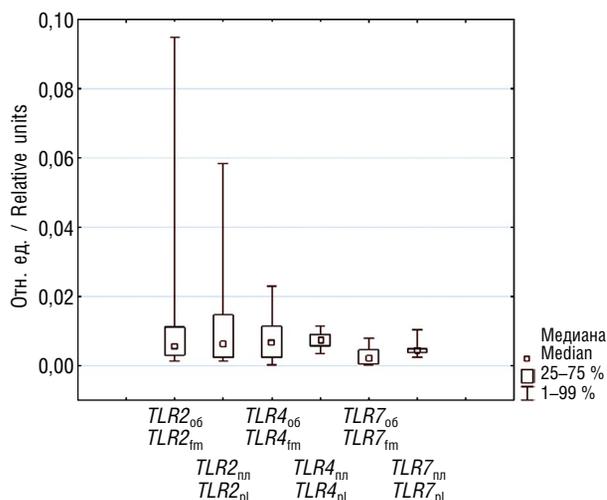


Рис. 1. Экспрессия генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте и плодных оболочках при доношенной беременности

Fig. 1. Expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* genes in placenta and fetal membrane during full-term pregnancy

статистика включала в себя определение медианы (*Me*), интерквартильного диапазона (25–75 %) — *Q*₁ и *Q*₃. Сравнения в группах выполнены с применением критерия Манна – Уитни. Корреляции оценены с помощью рангового критерия Спирмена.

Таблица 2 / Table 2

Корреляционная матрица для экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* и массы плаценты, *r* (*p*)

Correlation matrix for *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* gene expression and placental weight, *r* (*p*)

| Признак | <i>TLR2</i> _{об} | <i>TLR2</i> _{пл} | <i>TLR4</i> _{об} | <i>TLR4</i> _{пл} | <i>TLR7</i> _{об} | <i>TLR7</i> _{пл} |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <i>TLR2</i> _{об} | 1,00 | 0,84 (0,008) | 0,92 (0,001) | 0,05 (0,905) | 0,74 (0,036) | 0,58 (0,132) |
| <i>TLR2</i> _{пл} | 0,84 (0,008) | 1,00 | 0,84 (0,008) | 0,02 (0,960) | 0,966 (0,000) | 0,87 (0,004) |
| <i>TLR4</i> _{об} | 0,92 (0,001) | 0,83 (0,011) | 1,00 | 0,22 (0,585) | 0,79 (0,018) | 0,65 (0,079) |
| <i>TLR4</i> _{пл} | 0,05 (0,905) | 0,02 (0,96) | 0,22 (0,585) | 1,00 | 0,02 (0,951) | 0,11 (0,783) |
| <i>TLR7</i> _{об} | 0,74 (0,036) | 0,96 (0,000) | 0,79 (0,018) | 0,02 (0,951) | 1,00 | 0,90 (0,002) |
| <i>TLR7</i> _{пл} | 0,58 (0,132) | 0,87 (0,004) | 0,65 (0,079) | 0,11 (0,783) | 0,90 (0,002) | 1,00 |
| Масса плаценты, г | 0,66 (0,072) | 0,80 (0,017) | 0,85 (0,007) | 0,20 (0,627) | 0,85 (0,007) | 0,75 (0,032) |

Результаты исследования

Медиана возраста обследованных женщин составила 28 лет [28; 34], срок беременности — 39,1 [39; 39,4] нед. В среднем на одну пациентку приходилось 2,53 ± 1,81 беременностей, число первородящих — 33,33 %. У беременных отсутствовали тяжелая соматическая патология, хронические и острые воспалительные заболевания. Мазок на степень чистоты у всех пациенток был в норме. Результаты исследования экспрессии генов *TLR* представлены в табл. 1.

Для всех показателей уровень экспрессии был практически равным, только для *TLR7* был отмечен значимо более высокий уровень в плаценте — 0,00465 OE (0,00364–0,00515) по сравнению с плодными оболочками — 0,00195 OE (0,00098–0,00542) (рис. 1).

Максимальный разброс значений нами выявлен для *TLR2* как в плаценте, так и в плодных оболочках, минимальный — для *TLR7*.

Из табл. 2 видно, что уровень *TLR2* в оболочках положительно коррелирует с *TLR2* плаценты и *TLR4* оболочек, а, в свою очередь, *TLR2* плаценты имеет положительную корреляционную связь с *TLR4* и *TLR7* оболочек. Плацентарные *TLR4* и *TLR7* не имеют корреляционных связей с остальными *TLR*.

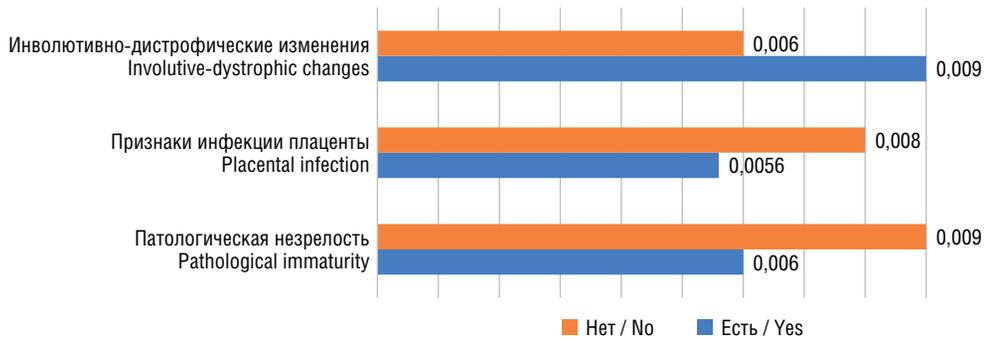


Рис. 2. Уровень экспрессии гена *TLR4* в плаценте при различных ее патолого-анатомических изменениях (относительные единицы, $p < 0,05$)

Fig. 2. The level of the *TLR4* gene expression in the placenta in case of various pathological changes in it (relative units, $p < 0.05$)

С целью оценки влияния связи экспрессии генов *TLR* на новорожденного нами проведен анализ весо-ростовых показателей новорожденных, а также оценки по шкале Апгар. У всех новорожденных весо-ростовые показатели соответствовали норме: вес — 3500 г [3050; 4180], рост — 53 см [51; 57]. Все новорожденные родились с хорошей оценкой по шкале Апгар (1-я минута — 8 [7; 8] баллов; 5-я минута — 8 [8; 9] баллов). Значимых корреляций между росто-весовыми показателями новорожденных и уровнем экспрессии генов *TLR* нами выявлено не было.

Все последы были подвергнуты патолого-анатомическому исследованию. У всех пациенток клинических данных о какой-либо акушерской патологии не было, но при этом в ряде случаев патологоанатомическое исследование продемонстрировало признаки воспалительного процесса и хронической плацентарной недостаточности. Так, соответствие плаценты сроку гестации наблюдалось только в 5 случаях (33,33 %), гипоплазия плаценты — в 2 (13,33 %), патологическая незрелость ворсин — в 9 (60 %), инволютивно-дистрофические нарушения — в 8 (53,33 %), компенсаторные реакции — в 8 (53,33 %), париетальный хориоамнионит — в 10 (66,67 %), хроническая плацентарная недостаточность — в 11 (73,33 %), отек плодных оболочек — в 5 (33,33 %) случаях.

Нами был проведен анализ связи гистологических изменений плаценты и плодных оболочек с уровнем экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7*. Медиана массы плацент составила 410 г [370; 450]. Уровень экспрессии генов всех вышеперечисленных *TLR* имел значимые положительные корреляции с массой плаценты (табл. 2), кроме *TLR4* в плаценте и *TLR2* в оболочках. Видимо, уровень экспрессии генов в целом зависит от плацен-

тарной массы, как органа, в котором экспрессируются данные гены.

Вышеперечисленные гистологические признаки (есть/нет) особенностей плаценты анализировали с помощью критерия Манна – Уитни, значимые различия были установлены для уровня экспрессии гена *TLR2* в плаценте и патологической незрелости ворсин. У беременных без патологической незрелости ворсин уровень экспрессии *TLR2* плаценты был в десятки раз выше, чем у пациенток с патологической незрелостью (0,012 ОЕ [0,008; 0,014] и 0,002 ОЕ [0,002; 0,006] соответственно, $Z = 2,13$; $p = 0,03$). Основные различия наблюдались для экспрессии гена *TLR4* в плаценте и при гистологических изменениях послеста (рис. 2).

Обсуждение результатов

Основные продуценты *TLRs* при доношенной беременности — децидуальные макрофаги, клетки Хофбауэра. При доношенной беременности экспрессия генов *TLR2*, *TLR3*, *TLR4* [22, 28] в разы превышает таковую в первом триместре.

Представленность *TLRs* в разных отделах репродуктивного тракта строго специфична [18]: эпителиальные клетки влагалища и эндоцервикса экспрессируют гены *TLR1–3*, *TLR5* и *TLR6* [14], эндометриальные клетки — *TLRs* 1–10-го типов, что обусловлено необходимостью ответа на широкий диапазон микробных агентов [6].

Основные рецепторы, распознающие бактериальный компонент на поверхности клеток — *TLR2* и *TLR4*, в свою очередь, запускают продукцию противовоспалительных цитокинов и хемокинов [25, 26]. *TLR7* как внутриклеточный рецептор локализуется в эндосомах и активируется одноцепочечными

молекулами РНК вирусов, служа, наряду с *TLR3* и *TLR9*, компонентом противовирусной системы защиты организма [1].

Инфекционные процессы, в том числе преждевременные роды, хориоамнионит, хронический эндометрит [3] ассоциированы с повышенной экспрессией *TLR4* [1, 5, 25]. А полиморфизм гена *Asp299Gly TLR4* связан с нарушением функции рецептора *TLR4* и повышенной вероятностью граммотрицательного сепсиса [7].

Роль *TLR7* также недостаточно изучена, хотя известно, что данный рецептор участвует в реализации врожденного иммунитета против вирусов (ssРНК вируса) и клеток хозяина (ssРНК хозяина), а также в реализации приобретенного иммунитета. Происходит стимуляция функций антигенраспознающих клеток и регуляторных Т-лимфоцитов, которые начинают активно продуцировать *TLR7*. Так, доказана связь уровня *TLR7* с системной красной волчанкой — заболеванием, ассоциированным с женским полом [13, 19].

Наше исследование позволяет объективно с помощью современных методов (ОТ-ПЦР) оценить состояние Toll-рецепторов в плаценте и плодных оболочках при физиологически протекающей доношенной беременности, их коррелированность между собой. В результате гистологического исследования плаценты были выявлены некоторые закономерности экспрессии Toll-рецепторов: «закулисные» компенсированные воспалительные реакции, без клинических проявлений и каких-либо негативных последствий для матери и плода на фоне повышенной экспрессии *TLR4* в плаценте.

На протяжении всей беременности все *TLR* экспрессируются на границе раздела матери и плода в пространственно-временной области специфическим образом [21, 24]. *TLR2* и *TLR4* экспрессируются в синцитиотрофобластах на протяжении всей беременности, причем наибольшая экспрессия наблюдается в третьем триместре [8, 17], возможно, для сдерживания шейно-вагинальных инфекций, которые могут поставить под угрозу продолжение беременности в этот критический период.

Основные механизмы, контролирующие пространственно-временную регуляцию *TLR* у матери и плода, все еще нуждаются в разъяснении. Во время беременности *TLR* экспрессируют клетки трофобласта, клетки Хофбауэра и эндотелиальные клетки, децидуальные и хориоамниотические мембраны. Кроме того, растворимая форма *TLR2* также присутствует в амниотической жидкости [12], что снижает

провоспалительную передачу сигналов лиганда, секвестрирует и, следовательно, снижает активацию *TLR2* в амниотическом эпителии.

Как упоминалось ранее, клетки Хофбауэра обычно считаются неэффективными для контроля вирусных инфекций, даже если они экспрессируют *TLR3*, который распознает двухцепочечную вирусную РНК [28]. Тем не менее повышенная секреция интерлейкинов 6 и 8 клетками Хофбауэра наблюдалась после обработки полисинтетическим аналогом двухцепочечной РНК, что свидетельствует о важной роли этих клеток в контроле вирусных инфекций [28]. С другой стороны, клетки Хофбауэра активно экспрессируют *TLR2* и *TLR4* [22, 28], что позволяет им легко реагировать на грамположительные и граммотрицательные бактерии. Фактически, клетки Хофбауэра у пациентов с хориоамнионитом сверхэкспрессируют *TLR4*, возможно, для усиления воспалительных сигналов, сдерживающих бактериальные инфекции [22].

Интересно, что децидуальная оболочка первого триместра продуцирует в два раза или даже больше мРНК для большинства *TLR* по сравнению с децидуальной тканью при доношенной беременности, за исключением *TLR2*, *TLR7* и *TLR9*, экспрессия которых оставалась постоянной на протяжении всей беременности [20]. Подобный паттерн экспрессии *TLR*, вероятно, связан с потребностью в более безопасной среде для высокоактивной децидуальной оболочки в начале беременности, тогда как в третьем триместре плацента берет на себя мониторинг и контроль уровня воздействия микробного антигена. Клинически значимое повышение *TLR2* было продемонстрировано в децидуальной ткани при преждевременных родах, связанных с инфекцией [14, 18].

Что касается хориоамниотических мембран, они экспрессируют все десять *TLR* на протяжении всей беременности [5, 16]. В частности, экспрессия *TLR4* на апикальной стороне амниотического эпителия позволяет ему реагировать на наличие возбудителя в околоплодных водах. Эта экспрессия *TLR4* вместе с *TLR2* индуцируется при хориоамнионите [27]. Кроме того, продемонстрировано, что прогестерон уменьшает хориоамниотическую экспрессию *TLR4*. Возможно, это компенсаторный механизм для ограничения продукции провоспалительных цитокинов в случае воздействия воспалительного стимула, который может подвергнуть опасности мать или плод [15].

В нашем исследовании уровни экспрессии *TLR4* и *TLR7* в плаценте не зависели от других

показателей (*TLR2* — в оболочках и плаценте, *TLR4* и *TLR7* — в оболочках), связанных между собой. Вероятно наличие данных корреляций связано с распределением клеток (моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, эпителиальных клеток, а особенно — клеток Хофбауэра). Клетки Хофбауэра располагаются исключительно в плаценте и, по всей видимости, экспрессия *TLR4* и *TLR7* в плаценте происходит изолированно, тогда как остальные Toll-подобные рецепторы были связаны между собой. Их минимальный разброс также свидетельствует в пользу определенной стабильности в глубине тканей плаценты этих показателей, в то время как вероятность контакта оболочек с микроорганизмами урогенитального тракта выше и, соответственно, размах этих показателей варьирует сильнее.

Достаточно сложно сравнивать наши результаты экспрессии генов с результатами других авторов, так как нормализация проводится по разным референсным генам, однако можно сделать вывод, что наиболее значимым показателем реакции на воспалительный процесс, особенно бактериального происхождения, является *TLR4*, что соответствует полученным результатам и данным литературы [15, 27]. Только для этого показателя мы получили статистически значимые различия: при инволютивно-дистрофических и воспалительных изменениях в плаценте экспрессия *TLR4* была выше, но при наличии патологической незрелости ворсин уровень *TLR4* был ниже, чем в плацентах с нормальным созреванием ворсин. Для остальных *TLR* значимых различий выявлено не было.

Физиологическое значение присутствия *TLR* в тканях гестации в том, что возможная инфекция мочеполовых путей может прервать беременность из-за раннего развития сигналов, связанных с родами, вызывая преждевременный разрыв плодных оболочек, что этиологически в большинстве случаев ассоциировано с внутриутробными бактериальными инфекциями [27].

Заключение

Из исследованных Toll-подобных рецепторов наиболее чувствительный индикатор воспалительного процесса — экспрессия *TLR4* в плаценте, которая уже на доклиническом этапе коррелирует с инволютивно-дистрофическими и воспалительными изменениями в плаценте. Уровень экспрессии *TLR* в плодных оболочках и плаценте значимо не различался, только для *TLR7* экспрессия в плаценте была почти в 2 раза выше, чем

в плодных оболочках. Эти два показателя не имели корреляций с оставшимися *TLRs*, которые между собой имеют сильные положительные корреляции. Экспрессия *TLR* закономерно зависела от массы плаценты.

Таким образом, исследование экспрессии *TLR* должно стать важным показателем в диагностике воспалительного процесса на уровне фетоплацентарного комплекса, так как эти гены — основные звенья в реализации врожденного антибактериального и противовирусного иммунитета.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Свитич О.А. и др. Преждевременные роды: причины, патогенез, тактика // *Акушерство и гинекология*. 2020. № 2. С. 82–87. DOI: 10.18565/aig.2020.2.82-87
2. Жидкова И.И., Понасенко А.В., Хуторная М.В. и др. Генетические факторы (гены рецепторов врожденного иммунитета — TLRs) в патогенезе атеросклероза и его осложнений // *Медицинская иммунология*. 2017. Т. 19, № 3. С. 241–254. DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3
3. Коган Е.А., Гомболевская Н.А., Демуря Т.А. и др. Роль toll-like рецепторов 2-го, 4-го, 9-го типов в патогенезе хронического эндометрита // *Акушерство и гинекология*. 2015. № 12. С. 81–88.
4. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских вузов. М., 2006.
5. Abrahams V.M., Potter J.A., Geeta B. et al. Bacterial modulation of human fetal membrane toll-like receptor expression // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013. Vol. 69, No. 1. P. 33–40. DOI: 10.1111/aji.12016
6. Afatoonian R., Fazeli A. Toll-like receptors in female reproductive tract and their menstrual cycle dependent expression // *J. Reprod. Immunol.* 2008. Vol. 77, No. 1. P. 7–13. DOI: 10.1016/j.jri.2007.03.014
7. Agnese D.M., Calvano J.E., Hahm S.J. et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections // *J. Infect. Dis.* 2002. Vol. 186, No. 10. P. 1522–1525. DOI: 10.1086/344893
8. Beijar E.C., Mallard C., Powell T.L. Expression and subcellular localization of TLR-4 in term and first trimester human placenta // *Placenta*. 2006. Vol. 27, No. 2–3. P. 322–326. DOI: 10.1016/j.placenta.2004.12.012
9. Bryant A.H., Thornton C.A. Cytokines and the innate immune response at the materno-fetal interface // *Recent Advances in Research on the Human Placenta*. 2012. P. 181–202. DOI: 10.5772/33219
10. Dabagh-Gorjani F., Anvari F., Zolghadri J. et al. Differences in the expression of TLRs and inflammatory cytokines in preeclamptic compared with healthy

- pregnant women // Iran. J. Immunol. 2014. Vol. 11, No. 4. P. 233–245.
11. De Nardo D. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation // *Cytokine*. 2015. Vol. 74, No. 2. P. 181–189. DOI: 10.1016/j.cyto.2015.02.025
 12. Dulay A.T., Buhimschi C.S., Zhao G. et al. Soluble TLR2 is present in human amniotic fluid and modulates the intraamniotic inflammatory response to infection // *J. Immunol.* 2009. Vol. 182, No. 11. P. 7244–7253. DOI: 10.4049/jimmunol.0803517
 13. Eng H.L., Hsu Y.Y., Lin T.M. Differences in TLR7/8 activation between monocytes and macrophages // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018. Vol. 497, No. 1. P. 319–325. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.079
 14. Fichorova R.N., Cronin A.O., Lien E. et al. Response to *Neisseria gonorrhoeae* by cervicovaginal epithelial cells occurs in the absence of toll-like receptor 4-mediated signaling // *J. Immunol.* 2002. Vol. 168, No. 5. P. 2424–2432. DOI: 10.4049/jimmunol.168.5.2424
 15. Flores-Espinosa P., Pineda-Torres M., Vega-Sanchez R. et al. Progesterone elicits an inhibitory effect upon LPS-induced innate immune response in pre-labor human amniotic epithelium // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014. Vol. 71, No. 1. P. 61–72. DOI: 10.1111/aji.12163
 16. Hoang M., Potter J.A., Gysler S.M. et al. Human fetal membranes generate distinct cytokine profiles in response to bacterial Toll-like receptor and nod-like receptor agonists // *Biol. Reprod.* 2014. Vol. 90, No. 2. P. 39. DOI: 10.1095/biolreprod.113.115428
 17. Holmlund U., Cebers G., Dahlfors A.R. et al. Expression and regulation of the pattern recognition receptors Toll-like receptor-2 and Toll-like receptor-4 in the human placenta // *Immunology*. 2002. Vol. 107, No. 1. P. 145–151. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2002.01491.x
 18. Horne A.W., Stock S.J., King A.E. Innate immunity and disorders of the female reproductive tract // *Reproduction*. 2008. Vol. 135, No. 6. P. 739–749. DOI: 10.1530/REP-07-0564
 19. Kim Y.M., Romero R., Oh S.Y. et al. Toll-like receptor 4: a potential link between “danger signals,” the innate immune system, and preeclampsia? // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2005. Vol. 193, No. 3 Pt 2. P. 921–927. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.07.076
 20. Krikun G., Lockwood C.J., Abrahams V.M. et al. Expression of Toll-like receptors in the human decidua // *Histol. Histopathol.* 2007. Vol. 22, No. 8. P. 847–854. DOI: 10.14670/HH-22.847
 21. Koga K., Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2010. Vol. 63, No. 6. P. 587–600. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00848.x
 22. Kumazaki K., Nakayama M., Yanagihara I. Immunohistochemical distribution of Toll-like receptor 4 in term and preterm human placentas from normal and complicated pregnancy including chorioamnionitis // *Hum. Pathol.* 2004. Vol. 35, No. 1. P. 47–54. DOI: 10.1016/j.humpath.2003.08.027
 23. McCarthy C.G., Goulopoulou S., Wenceslau C.F. et al. Toll-like receptors and damage-associated molecular patterns: novel links between inflammation and hypertension // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2014. Vol. 306, No. 2. P. H184–196. DOI: 10.1152/ajpheart.00328.2013
 24. Olmos-Ortiz A., Flores-Espinosa P., Mancilla-Herrera I. et al. Innate immune cells and toll-like receptor-dependent responses at the maternal-fetal interface // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20, No. 15. P. 3654. DOI: 10.3390/ijms20153654
 25. Patni S., Wynen L.P., Seager A.L. et al. Expression and activity of Toll-like receptors 1-9 in the human term placenta and changes associated with labor at term // *Biol. Reprod.* 2009. Vol. 80, No. 2. P. 243–248. DOI: 10.1095/biolreprod.108.069252
 26. Patni S., Bryant A.H., Wynen L.P. et al. Functional activity but not gene expression of toll-like receptors is decreased in the preterm versus term human placenta // *Placenta*. 2015. Vol. 36, No. 9. P. 1031–1038. DOI: 10.1016/j.placenta.2015.06.017
 27. Tchirikov M., Schlabritz-Loutsevitch N., Maher J. et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): Etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome // *J. Perinat. Med.* 2018. Vol. 46, No. 5. P. 465–488. DOI: 10.1515/jpm-2017-0027
 28. Young O.M., Tang Z., Niven-Fairchild T. et al. Toll-like receptor-mediated responses by placental Hofbauer cells (HBCs): A potential pro-inflammatory role for fetal M2 macrophages // *J. Reprod. Immunol.* 2015. Vol. 73, No. 1. P. 22–35. DOI: 10.1111/aji.12336

References

1. Belousova VS, Strizhakov AN, Svitich OA, et al. Prezhdevremennyye rody: prichiny, patogenez, taktika. *Obstetrics and Gynecology*. 2020;(2):82–87. (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2020.2.82-87
2. Zhidkova II, Ponasenkov AV, Hutornaja MV, et al. Genomic factors (Toll-like receptors genes) in development of atherosclerosis and its clinical manifestations. *Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(3):241–254. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3
3. Kogan EA, Gombolevskaja NA, Demura TA, et al. Role of toll-like receptors 2, 4, 9 in the endometrium in chronic endometritis. *Obstetrics and Gynecology*. 2015;(12):81–88. (In Russ.)
4. Haitov RM. Immunologija: uchebnik dlja studentov medicinskih vuzov. Moscow; 2006. (In Russ.)
5. Abrahams VM, Potter JA, Geeta B, et al. Bacterial modulation of human fetal membrane toll-like receptor expression. *Am J Reprod Immunol*. 2013;69(1):33–40. DOI: 10.1111/aji.12016
6. Aflatoonian R, Fazeli A. Toll-like receptors in female reproductive tract and their menstrual cycle dependent expression. *J Reprod Immunol*. 2008;77(1):7–13. DOI: 10.1016/j.jri.2007.03.014
7. Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative

- infections. *J Infect Dis.* 2002;186(10):1522–1525. DOI: 10.1086/344893
8. Bejar EC, Mallard C, Powell TL. Expression and subcellular localization of TLR-4 in term and first trimester human placenta. *Placenta.* 2006;27(2–3):322–326. DOI: 10.1016/j.placenta.2004.12.012
 9. Bryant AH, Thornton CA. Cytokines and the innate immune response at the materno-fetal interface. In: *Recent Advances in Research on the Human Placenta.* 2012. P. 181–202. DOI: 10.5772/33219
 10. Dabagh-Gorjani F, Anvari F, Zolghadri J, et al. Differences in the expression of TLRs and inflammatory cytokines in preeclamptic compared with healthy pregnant women. *Iran J Immunol.* 2014;11(4):233–245.
 11. De Nardo D. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation. *Cytokine.* 2015;74(2):181–189. DOI: 10.1016/j.cyto.2015.02.025
 12. Dulay AT, Buhimschi CS, Zhao G, et al. Soluble TLR2 is present in human amniotic fluid and modulates the intraamniotic inflammatory response to infection. *J Immunol.* 2009;182(11):7244–7253. DOI: 10.4049/jimmunol.0803517
 13. Eng HL, Hsu YY, Lin TM. Differences in TLR7/8 activation between monocytes and macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;497(1):319–325. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.079
 14. Fichorova RN, Cronin AO, Lien E, et al. Response to *Neisseria gonorrhoeae* by cervicovaginal epithelial cells occurs in the absence of toll-like receptor 4-mediated signaling. *J Immunol.* 2002;168(5):2424–2432. DOI: 10.4049/jimmunol.168.5.2424
 15. Flores-Espinosa P, Pineda-Torres M, Vega-Sanchez R, et al. Progesterone elicits an inhibitory effect upon LPS-induced innate immune response in pre-labor human amniotic epithelium. *Am J Reprod Immunol.* 2014;71(1):61–72. DOI: 10.1111/aji.12163
 16. Hoang M, Potter JA, Gysler SM, et al. Human fetal membranes generate distinct cytokine profiles in response to bacterial Toll-like receptor and nod-like receptor agonists. *Biol Reprod.* 2014;90(2):39. DOI: 10.1095/biolreprod.113.115428
 17. Holmlund U, Cebers G, Dahlfors AR, et al. Expression and regulation of the pattern recognition receptors Toll-like receptor-2 and Toll-like receptor-4 in the human placenta. *Immunology.* 2002;107(1):145–151. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2002.01491.x
 18. Horne AW, Stock SJ, King AE. Innate immunity and disorders of the female reproductive tract. *Reproduction.* 2008;135(6):739–749. DOI: 10.1530/REP-07-0564
 19. Kim YM, Romero R, Oh SY, et al. Toll-like receptor 4: a potential link between “danger signals,” the innate immune system, and preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 2):921–927. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.07.076
 20. Krikun G, Lockwood CJ, Abrahams VM, et al. Expression of Toll-like receptors in the human decidua. *Histol Histopathol.* 2007;22(8):847–854. DOI: 10.14670/HH-22.847
 21. Koga K, Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):587–600. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00848.x
 22. Kumazaki K, Nakayama M, Yanagihara I. Immunohistochemical distribution of Toll-like receptor 4 in term and preterm human placentas from normal and complicated pregnancy including chorioamnionitis. *Hum Pathol.* 2004;35(1):47–54. DOI: 10.1016/j.humpath.2003.08.027
 23. McCarthy CG, Goulopoulou S, Wenceslau CF, et al. Toll-like receptors and damage-associated molecular patterns: novel links between inflammation and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;306(2):H184–196. DOI: 10.1152/ajpheart.00328.2013
 24. Olmos-Ortiz A, Flores-Espinosa P, Mancilla-Herrera I, et al. Innate immune cells and toll-like receptor-dependent responses at the maternal-fetal interface. *Int J Mol Sci.* 2019;20(15):3654. DOI: 10.3390/ijms20153654
 25. Patni S, Wynen LP, Seager AL, et al. Expression and activity of Toll-like receptors 1–9 in the human term placenta and changes associated with labor at term. *Biol Reprod.* 2009;80(2):243–248. DOI: 10.1095/biolreprod.108.069252
 26. Patni S, Bryant AH, Wynen LP, et al. Functional activity but not gene expression of toll-like receptors is decreased in the preterm versus term human placenta. *Placenta.* 2015;36(9):1031–1038. DOI: 10.1016/j.placenta.2015.06.017
 27. Tchirikov M, Schlabritz-Loutsevitch N, Maher J, et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): Etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J Perinat Med.* 2018;46(5):465–488. DOI: 10.1515/jpm-2017-0027
 28. Young OM, Tang Z, Niven-Fairchild T, et al. Toll-like receptor-mediated responses by placental Hofbauer cells (HBCs): A potential pro-inflammatory role for fetal M2 macrophages. *J Reprod Immunol.* 2015;73(1):22–35. DOI: 10.1111/aji.12336

■ Информация об авторах

Мария Александровна Каганова — кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ИПО. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: mkaganova@yandex.ru

■ Information about the authors

Maria A. Kaganova — Candidate of Medical Science, Associate Professor, Obstetrics and Gynecology Department, IPE. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: mkaganova@yandex.ru

ОСТРЫЙ ИНФАРКТ МИОКАРДА У БЕРЕМЕННОЙ НА ФОНЕ ВРОЖДЕННОЙ ТРОМБОФИЛИИ**А.В. Рыбас¹, Е.Н. Данилова², И.Б. Павлова²**¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, Россия;² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Ставропольского края «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь, Россия**Как цитировать:** Рыбас А.В., Данилова Е.Н., Павлова И.Б. Острый инфаркт миокарда у беременной на фоне врожденной тромбофилии // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 200–204. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.200-204>

Поступила: 07.07.2021

Одобрена: 05.08.2021

Принята: 06.09.2021

Представлен клинический случай острого инфаркта миокарда у беременной на фоне врожденной тромбофилии. Острый инфаркт миокарда чаще развивается в III триместре, у женщин старше 30 лет с классическими факторами риска: курение, гиперлипидемия, ожирение, артериальная гипертензия, сахарный диабет. Риск инфаркта у беременных существенно возрастает на фоне тромбофилии. Тромбофилия — это наследственная или приобретенная предрасположенность к тромбозам. Острый инфаркт миокарда — редкое осложнение беременности, сопровождающееся высокой смертностью. В основе развития тромбоза в конкретном случае лежит врожденная (наследственная, семейная) тромбофилия, включающая полиморфизм генов, ответственных за различные звенья гемостаза — плазменное, тромбоцитарное, в сочетании с беременностью, которая предполагает состояние гиперкоагуляции.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда; тромбофилия; беременность.

ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION IN A PREGNANT WOMAN WITH CONGENITAL THROMBOPHILIA**A.V. Rybas¹, E.N. Danilova², I.B. Pavlova²**¹ Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia;² Stavropol Regional Clinical Hospital, Stavropol, Russia**To cite this article:** Rybas AV, Danilova EN, Pavlova IB. Acute myocardial infarction in a pregnant woman with congenital thrombophilia. *Aspirantskiy Vestnik Povolzhiya*. 2021;(5-6):200–204. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.200-204>

Received: 07.07.2021

Revised: 05.08.2021

Accepted: 06.09.2021

A clinical case of acute myocardial infarction in a pregnant woman with congenital thrombophilia is presented. Acute myocardial infarction is more likely to develop in the third trimester, in women older than 30 years with classic risk factors: smoking, hyperlipidemia, obesity, hypertension, diabetes mellitus. The risk of acute myocardial infarction in pregnant women increases significantly against the background of thrombophilia. Thrombophilia is a hereditary or acquired predisposition to thrombosis. Acute myocardial infarction is a rare complication of pregnancy and is associated with high mortality. The development of thrombosis in a particular case is based on congenital (hereditary, familial) thrombophilia, which includes polymorphism of genes responsible for various parts of hemostasis – plasma, platelet in combination with pregnancy, which implies a state of hypercoagulation.

Keywords: acute myocardial infarction; thrombophilia; pregnancy.

Введение

Одна из главных причин материнской смертности — сердечно-сосудистые заболевания. Острый инфаркт миокарда (ОИМ) чаще развивается в III триместре беременности, у женщин старше 30 лет с классическими факторами риска: курение, гиперлипидемия,

ожирение, артериальная гипертензия, сахарный диабет [1–3]. Смертность от ОИМ у беременных остается высокой и составляет примерно 20 % [3]. Известно, что беременность сопровождается смещением баланса гемостаза в сторону гиперкоагуляции, которая считается естественной реакцией

организма на ожидаемую физиологическую кровопотерю во время родов и в послеродовом периоде. Это проявляется активацией свертывания за счет повышения уровня факторов свертывания, снижения активности протеина S и одновременно уменьшается активность фибринолиза из-за значительного повышения ингибитора активатора плазминогена 1-го и 2-го типов (PAI-1 и PAI-2) [5, 6].

Риск ОИМ у беременных существенно возрастает на фоне тромбофилии [4, 6]. Тромбофилия — это наследственная или приобретенная предрасположенность к тромбозам [5–7]. Следует отметить, что тромбофилия — это только предрасположенность, но не заболевание как таковое. Обычно клиническую значимость тромбофилия приобретает при наличии факторов риска (онкологические заболевания, прием пероральных контрацептивов, беременность, послеродовой период и др.) [5]. Носительство полиморфизма генов тромбофилии способно усилить гиперкоагуляцию во время беременности и стать причиной осложнений [4, 6–9]. Наиболее изученные и часто встречаемые врожденные аномалии: резистентность к активированному протеину C, вызываемая дефектом фактора V (Лейденская мутация), мутация типа 20210A в гене, кодирующем протромбин, мутация с 667T гена метилентетрагидрофолатредуктазы, повышение уровня гомоцистеина, дефицит антитромбина III, дефицит протеина C, дефицит протеина S, повышение уровня факторов VIII, IX, XI [6–10].

Наличие у молодой беременной пациентки острого инфаркта миокарда с интактными коронарными артериями позволило высказать предположение о наличии у нее врожденной (генетической) тромбофилии в качестве основы развития тромбоза коронарных артерий, что впоследствии и было подтверждено.

Приводим собственное клиническое наблюдение.

Клиническое наблюдение

Пациентка Ш., 27 лет (беременность 34–35 нед.), поступила в кардиологическое отделение регионального сосудистого центра с жалобами на одышку в покое, усиливающуюся при малейшей физической нагрузке, дискомфорт за грудиной, выраженную слабость. Появление небольшой одышки при физической нагрузке заметила месяц назад, в связи с ухудшением состояния (усилением одышки, появлением потливости, слабости) и развитием болевого синдрома за грудиной

с предварительным диагнозом острого коронарного синдрома с подъемом сегмента ST бригадой скорой помощи была доставлена в региональный сосудистый центр для интервенционного лечения. Кардиоваскулярные факторы риска отсутствуют. Наследственный анамнез по сердечно-сосудистой патологии неотягощен. Акушерский анамнез: настоящая беременность вторая, в I и II триместрах протекала без осложнений, первая беременность в 23 года — самопроизвольный выкидыш при сроке 12–13 нед. Комбинированные оральные контрацептивы не принимала.

При объективном исследовании — общее состояние тяжелое, кожные покровы бледные, гипергидроз, приглушенность сердечных тонов, систолический шум на верхушке, при аускультации над легкими дыхание везикулярное, с жестким оттенком, выслушивается обильная крепитация. Частота сердечных сокращений 120 в минуту, артериальное давление 90/60 мм рт. ст.

Лабораторные исследования: в общем анализе крови — лейкоцитоз (WBC — $13,4 \cdot 10^9/\text{л}$), гемоглобин — 113 г/л, остальные показатели — в пределах нормы. В биохимическом анализе крови: электролиты в пределах нормы, аспаратаминотрансфераза — 75 Ед/л, аланинаминотрансфераза — 161 Ед/л, лактатдегидрогеназа — 235 Ед/л, С-реактивный белок — 4,8 мг/л, креатинин — 113 мкмоль/л, мочевины — 8,9 ммоль/л. Общий белок, билирубин, глюкоза крови — не изменены. Липидограмма: общий холестерин — 4,21 ммоль/л, липопротеины высокой плотности — 0,78 ммоль/л, липопротеины низкой плотности — 2,54 ммоль/л, триглицериды — 1,10 ммоль/л. Тропонин — HS — 738 пг/мл, мозговой натрийуретический пропептид (NT-proBNP) — 2170 пг/мл. Сывороточное железо — 8 ммоль/л. Коагулограмма: D-димер — 10,1 мкмоль/л, протромбиновое время — 18,1 с, фибриноген — 6,79 г/л, активированное частичное тромбопластиновое время — 41,9 с, протромбиновый индекс — 89 %.

Гены тромбофилии. Выявлены полиморфизм в гене F2 генотип G/A, гетерозиготы в гене F7 (проконвертин) генотип G/A, гомозигота в гене PAI-1 (серпин) генотип 4G/4G, гетерозигота в гене ITAG2-a2, интегрин генотип C/T.

Электрокардиограмма (ЭКГ) при поступлении в стационар: синусовая тахикардия с частотой сердечных сокращений 140 в минуту. Очаговые изменения передне-перегородочно-верхушечно-боковой стенки левого желудочка. Подъем сегмента ST в V1–V6 (см. рисунок). На контрольной ЭКГ — блокада правой ножки

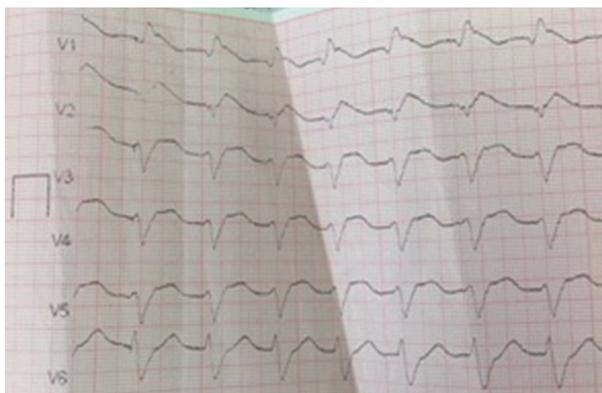


Рисунок. Электрокардиограмма больной Ш. Подъем сегмента *ST* в V1-V6

Figure. Electrocardiography of the patient Ch. *ST* segment elevation at leads V1-V6

пучка Гиса, закономерная динамика острого инфаркта миокарда.

Мультиспиральная компьютерная томография легких с внутренним болюсным контрастированием: легкие расправлены, в дорсальных сегментах нижних долей обоих легких (S 6-9-10) инфильтрация. В S4 правого легкого — небольшой фокус инфильтрации. В правой плевральной полости толщина слоя жидкости до 10 мм, в левой плевральной полости толщина слоя до 4 мм. Заключение: картина двусторонней пневмонии, двустороннего гидроторакса. Признаков тромбоэмболии легочной артерии нет.

Эхокардиография с цветным картированием: левый желудочек — конечный диастолический размер — 4,8 см; конечный систолический размер — 3,3 см; задняя стенка левого желудочка в диастолу — 1,1 см; межжелудочковая перегородка в диастолу — 1,1 см, фракция выброса 30 % (метод Тейхольца). Систолическое давление в легочной артерии — 38 мм рт. ст. (норма до 30 мм рт. ст.). Значительное снижение глобальной сократительной способности миокарда. Миокард левого желудочка гипокинетичен в целом, преимущественно по переднеперегородочному сегменту. Умеренное увеличение всех полостей сердца. Недостаточность трикуспидального клапана. Незначительная аортальная регургитация. Дисфункция клапана легочной артерии. Диффузные изменения в миокарде левого желудочка. Умеренная степень легочной гипертензии.

Коронарная ангиография: тип кровоснабжения правый; расположение коронарных артерий обычное, контуры ровные, ширина просвета равномерная; патологических изменений в бассейне левой и правой коронарной артерий не выявлено.

Через два часа после поступления в стационар у пациентки появились схваткообразные боли в животе, излитие околоплодных вод. Консультирована акушером-гинекологом, проведен консилиум, с учетом начавшейся родовой деятельности принято решение об экстренном родоразрешении. Показания к досрочному родоразрешению при ОИМ: сохраняющаяся стенокардия; злокачественные аритмии, устойчивые к проводимой терапии; левожелудочковая сердечная недостаточность [11], которая имела у нашей пациентки. В подобных случаях (при наличии у пациентки тяжелой экстрагенитальной патологии и развития осложнений в виде отека легких, двусторонней пневмонии, дыхательной недостаточности) предпочтительным считается искусственное родоразрешение, но от кесарева сечения больная категорически отказалась. Родоразрешение было проведено через естественные родовые пути под кардиомониторным наблюдением.

Диагноз у нашей пациентки соответствовал критериям ОИМ у беременных (клинические проявления, подъем сегмента *ST* на ЭКГ и наличие биохимических маркеров некроза миокарда) [11]. Возникший у беременной ОИМ в III триместре часто требует исключения перипартальной кардиомиопатии, однако в нашем наблюдении имелись четкие диагностические критерии ОИМ с закономерной его динамикой (ЭКГ и маркеры некроза миокарда).

Сформулирован клинический диагноз пациентки. Основной: Острый Q-позитивный (с подъемом *ST*) инфаркт миокарда переднеперегородочно-верхушечно-боковой области левого желудочка, ангинозно-астматический вариант, тип 2.

Носительство полиморфизмов генов, ассоциированных с риском тромбофилии: *F2* (генотип G/A — увеличение уровня протромбина в крови), *ITGA2* (генотип C/T — увеличение скорости адгезии тромбоцитов), *PAI-1* (генотип 4G/4G — снижение фибринолитической активности крови).

Осложнения: Транзиторная блокада правой ножки пучка Гиса. Острая левожелудочковая недостаточность (стадия III по Killip): отек легких. Двусторонний гидроторакс, гипостатическая двусторонняя нижнедолевая пневмония. Легочная гипертензия. Дыхательная недостаточность.

Сопутствующие: Беременность 34 нед. 4 дня, головное предлежание плода. Роды вторые, поздние, преждевременные, спонтанные. Отягощенный акушерский анамнез.

Лечение, включающее эноксапарин натрия, ацетилсалициловую кислоту, карведи-

лол, спиринолактон, левосимендан, Ликферр, увлажненный кислород, привело к значительному улучшению состояния (клиническое, нормализация уровня ферментов, увеличение уровней сывороточного железа и гемоглобина, увеличение фракции выброса до 50 %). Послеродовой период протекал без осложнений. Ребенок здоров (масса плода при рождении 2600 г). Проявления сердечной недостаточности (одышка, слабость) постепенно уменьшились, увеличилась переносимость физических нагрузок. Пациентка выписана в удовлетворительном состоянии на амбулаторное лечение с рекомендацией приема антикоагулянтов и ацетилсалициловой кислоты.

Обсуждение

ОИМ — редкое осложнение беременности с высокой смертностью [3, 10]. Развитие тромбоза у беременных связано не только с гиперкоагуляцией, но и другими факторами, в частности, наследственной тромбофилией. В основе развития тромбоза в конкретном случае лежит врожденная (наследственная, семейная) тромбофилия, включающая полиморфизм генов, ответственных за различные звенья гемостаза — плазменное, тромбоцитарное в сочетании с беременностью, которая предполагает состояние гиперкоагуляции. Нарушения, выявленные при молекулярно-генетическом анализе, свидетельствуют о следующих нарушениях: полиморфизм в гене *F2* генотип G/A приводит к повышению уровня протромбина, а гетерозигота в гене *ITAG2-a2* интегрина способствует увеличению скорости адгезии тромбоцитов. Большое внимание необходимо уделять роли ингибитора активатора пламиногена (PAI-1) в снижении фибринолитического потенциала и усилении процессов тромбообразования. Повышение активности PAI-1 часто встречается у пациентов с ишемической болезнью сердца и ассоциируется с риском развития ОИМ. У пациентки обнаружена гомозигота в гене *PAI-1* (серпин) генотип 4G/4G, причем носительство аллеля 4G ассоциируется с высокой активностью PAI-1 в плазме крови. Важной генетической детерминантой уровня PAI-1 является полиморфизм 4G/5G в 5'-нетранслируемой области гена. Аллели 4G и 5G характеризуются различным базальным уровнем экспрессии PAI-1, у гомозигот 4G/4G он на 25–30 % больше, чем у носителей аллеля 5G [12].

В настоящее время увеличилась частота тромботических инфарктов у беременных; поэтому так важно своевременно проводить

исследование на врожденную тромбофилию [10]. Клиническая значимость наблюдения заключается в том, что представленный случай как раз характеризует роль генетических факторов тромбофилического состояния в развитии тромбоза коронарных сосудов у беременной. Тромбофилии сложны в диагностике, поскольку кроме тромбозов не имеют никаких клинических проявлений. Заподозрить подобную патологию можно, лишь предварительно исключив другие, более часто встречающиеся заболевания, протекающие с образованием тромбов. Клиническими ориентирами при выявлении генетических форм тромбофилий являются тромбозы в молодом возрасте (до 40 лет), рецидивирующий и беспричинный их характер, необычная локализация (мезентериальные, церебральные сосуды), наличие положительного семейного тромботического анамнеза, тромбозы после травмы.

Таким образом, еще на этапе планирования беременности, особенно у женщин с отягощенным тромботическим анамнезом, при наличии различных факторов риска (модифицируемых и немодифицируемых), необходимо проводить более расширенное обследование с целью раннего выявления тромбофилических состояний и предотвращения в будущем сердечно-сосудистых катастроф. Родоразрешение при ОИМ может осуществляться как через естественные родовые пути, так и оперативным путем. Родоразрешение через естественные родовые пути позволяет избежать потенциальных рисков, связанных с анестезией, относительно безопасно при условии стабильного состояния гемодинамики пациентки. Оперативное родоразрешение осуществляется с мониторингом ЭКГ и артериального давления, пульсоксиметрией [11]. Тактику лечения совместно определяют кардиологи и акушеры-гинекологи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что данная работа, ее тема, предмет и содержание не затрагивают конкурирующих интересов.

Источники финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Список литературы

1. James A.H., Jamison M.G., Biswas M.S. et al. Acute myocardial infarction in pregnancy: a United States population-based study // *Circulation*. 2006. Vol. 113, No. 12. P. 1564–1571. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.576751

2. Poh C.C., Lee C.H. Acute myocardial infarction in pregnant women // *Ann. Acad. Med. Singap.* 2010. Vol. 39, No. 3. 247–253.
3. Başkurt M., Ozkan T., Arat Ozkan A., Gürmen T. Acute myocardial infarction in a young pregnant woman // *Anadolu Kardiyol. Derg.* 2010. Vol. 10, No. 3. P. 285–286. DOI: 10.5152/akd.2010.072
4. Roth A., Elkayam U. Acute myocardial infarction associated with pregnancy // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008. Vol. 52, No. 3. P. 171–180. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.03.049
5. Галайко М.В., Рыбина О.В., Литвиненко М.С. и др. Тромбофилия и беременность // *Клиническая онкогематология.* 2017. Т. 10, № 3. С. 409–422. DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-409-422
6. Iaccarino D., Monopoli D., Rampino K.C. et al. Acute ST elevation myocardial infarction in early puerperium due to left main coronary thrombosis in a woman with thrombophilic state: a case report // *J. Cardiovasc. Med. (Hagerstown).* 2010. Vol. 11, No. 10. P. 758–761. DOI: 10.2459/JCM.0b013e3283347db9
7. Dizon-Townson D., Miller C., Sibai B. et al. The relationship of the factor V Leiden mutation and pregnancy outcomes for mother and fetus // *Obstet. Gynecol.* 2005. Vol. 106, No. 3. P. 517–524. DOI: 10.1097/01.AOG.0000173986.32528.ca
8. Kupferminc M.J., Eldor A., Steinman N. et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complication of pregnancy // *N. Engl. J. Med.* 1999. Vol. 340, No. 1. P. 9–13. DOI: 10.1056/NEJM199901073400102
9. Khalafallah A.A., Ibraheem A.R., Teo Q.Y. et al. Review of management and outcomes in women with thrombophilia risk during pregnancy at a single institution // *ISRN Obstet. Gynecol.* 2014. Vol. 2014. P. 381826. DOI: 10.1155/2014/381826
10. Coriu L., Copaciu E., Tulbure D. et al. Inherited thrombophilia in pregnant women with intrauterine growth restriction // *Maedica (Bucur).* 2014. Vol. 9, No. 4. P. 351–355.
11. Стрюк Р.И., Бунин Ю.А., Гурьева В.М. и др. Диагностика и лечение сердечно-сосудистых заболеваний при беременности 2018. Национальные рекомендации // *Российский кардиологический журнал.* 2018. Т. 3, № 155. С. 91–134. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-3-91-134
12. Гематология: национальное руководство / под ред. О.М. Рукавицына М., 2019.

■ Информация об авторах

Анна Викторовна Рыбас — кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной терапии. ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, Россия. E-mail: rybasdoc@mail.ru

Елена Николаевна Данилова — заведующая кардиологическим отделением. ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь, Россия. E-mail: danilen72@mail.ru

Ирина Борисовна Павлова — врач-кардиолог кардиологического отделения. ГБУЗ СК «Ставропольская краевая клиническая больница», Ставрополь, Россия. E-mail: stavrpavlfam@yandex.ru

References

1. James AH, Jamison MG, Biswas MS, et al. Acute myocardial infarction in pregnancy: a United States population-based study. *Circulation.* 2006;113(12):1564–1571. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.576751
2. Poh CC, Lee CH. Acute myocardial infarction in pregnant women. *Ann Acad Med Singap.* 2010;39(3):247–253.
3. Başkurt M, Ozkan T, Arat Ozkan A, Gürmen T. Acute myocardial infarction in a young pregnant woman. *Anadolu Kardiyol Derg.* 2010;10(3):285–286. DOI: 10.5152/akd.2010.072
4. Roth A, Elkayam U. Acute myocardial infarction associated with pregnancy. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52(3):171–180. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.03.049
5. Galaiko MV, Rybina OV, Litvinenko MS, et al. Thrombophilia and Pregnancy. *Clinical oncohematology.* 2017;10(3):409–422. (In Russ.). DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-3-409-422
6. Iaccarino D, Monopoli D, Rampino KC, et al. Acute ST elevation myocardial infarction in early puerperium due to left main coronary thrombosis in a woman with thrombophilic state: a case report. *J Cardiovasc Med (Hagerstown).* 2010;11(10):758–761. DOI: 10.2459/JCM.0b013e3283347db9
7. Dizon-Townson D, Miller C, Sibai B, et al. The relationship of the factor V Leiden mutation and pregnancy outcomes for mother and fetus. *Obstet Gynecol.* 2005;106(3):517–524. DOI: 10.1097/01.AOG.0000173986.32528.ca
8. Kupferminc MJ, Eldor A, Steinman N, et al. Increased frequency of genetic thrombophilia in women with complication of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999;340(1):9–13. DOI: 10.1056/NEJM199901073400102
9. Khalafallah AA, Ibraheem AR, Teo QY, et al. Review of management and outcomes in women with thrombophilia risk during pregnancy at a single institution. *ISRN Obstet Gynecol.* 2014;2014:381826. DOI: 10.1155/2014/381826
10. Coriu L, Copaciu E, Tulbure D, et al. Inherited thrombophilia in pregnant women with intrauterine growth restriction. *Maedica (Bucur).* 2014;9(4):351–355.
11. Stryuk RI, Bunin YuA, Gur'eva VM, et al. Diagnosis and treatment of cardiovascular diseases during pregnancy 2018. National guidelines. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;3(155):91–134. DOI: 10.15829/1560-4071-2018-3-91-134
12. Gematologiya: nacionalnoe rukovodstvo. Ed. by O.A. Ru-kavitsyn. Moscow; 2019. (In Russ.)

■ Information about the authors

Anna V. Rybas — Candidate of Medical Science, Associate Professor of the Hospital Therapy Department. Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia. E-mail: rybasdoc@mail.ru

Elena N. Danilova — Head of the Cardiology Department. Stavropol Regional Clinical Hospital, Stavropol, Russia. E-mail: danilen72@mail.ru

Irina B. Pavlova — Cardiologist of the Cardiology Department. Stavropol Regional Clinical Hospital, Stavropol, Russia. E-mail: stavrpavlfam@yandex.ru

ДИАГНОСТИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА У ДЕТЕЙ С ДИСТАЛЬНОЙ ОККЛЮЗИЕЙ

Д.А. Андриянов^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия;

² Многопрофильная клиника Постникова, Самара, Россия;

Как цитировать: Андриянов Д.А. Диагностика морфофункционального состояния височно-нижнечелюстного сустава у детей с дистальной окклюзией // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 205–214. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.205-214>

Поступила: 16.06.2021

Одобрена: 17.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ Актуальной проблемой по усовершенствованию обследования пациентов с дистальной окклюзией на сегодняшний день остается разработка модифицированного подхода в диагностике морфофункционального состояния височно-нижнечелюстного сустава у детей с данной патологией, как наиболее часто встречающейся аномалией прикуса. Проведено обследование 24 детей с различными зубочелюстно-лицевыми аномалиями. Разработанная тактика диагностики состояния зубочелюстной системы у пациентов с различными зубочелюстно-лицевыми аномалиями предполагает комплекс последовательно проведенных обследований: телерентгенографии, конусно-лучевой компьютерной томографии, ультразвукового исследования, кинезиографии и электромиографии. Полученные результаты исследования позволили оценить морфофункциональное состояние височно-нижнечелюстного сустава у детей с дистальной окклюзией.

■ **Ключевые слова:** височно-нижнечелюстной сустав; дистальная окклюзия; телерентгенография; конусно-лучевая компьютерная томография; ультразвуковое исследование; кинезиография; электромиография.

DIAGNOSTICS OF THE MORPHOLOGICAL AND FUNCTIONAL STATE OF TEMPOROMANDIBULAR JOINT IN CHILDREN WITH DISTAL OCCLUSION

D.A. Andriyanov^{1,2}

¹ Samara State Medical University, Samara, Russia;

² Postnikov's Multidisciplinary Clinic, Samara, Russia

To cite this article: Andriyanov DA. Diagnostics of the morphological and functional state of temporomandibular joint in children with distal occlusion. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):205–214. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.205-214>

Received: 16.06.2021

Revised: 17.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ Nowadays it is important to improve the techniques to diagnose malocclusion class II which is very common in children. 24 patients with various maxillofacial anomalies were examined. The developed diagnostic tactics in children with various maxillofacial anomalies involves a set of sequential studies: teleroentgenography, cone-beam computed tomography, ultrasound, kinesiography and electromyography. The obtained results allow assessing the morphological and functional state of the temporomandibular joint in children with distal malocclusion.

■ **Keywords:** temporomandibular joint; malocclusion class II; cephalometric X-ray; cone-beam computed tomography; ultrasound; kinesiography; electromyography.

Обоснование

По различным оценкам, распространенность зубочелюстно-лицевых аномалий составляет до 95 %. Значительную долю занимают сагиттальные аномалии окклюзии

(31–56 %), на первом месте среди которых находится дистальная окклюзия [3, 7]. По данным различных авторов, заболевания височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) встречаются у 25–65 % населения, причем

в подростковой и юношеской группах данный показатель колеблется в пределах 16–30 % [5]. Известны различные способы визуализаций элементов ВНЧС с помощью метода магнитно-резонансной томографии (МРТ), компьютерной томографии (КТ), рентгенографии, однако они позволяют оценить только анатомическое строение, без учета функционального состояния [1, 4, 6, 9]. Существует способ ультразвукового исследования (УЗИ), который позволяет оценить функциональное состояние, однако не дает четкой визуализации костных структур. Методом УЗИ можно выявить признаки воспалительных, дегенеративных, деструктивных и травматических изменений костно-хрящевых структур и связок сустава [2, 8]. Поэтому актуальным остается разработка модифицированного подхода в диагностике морфофункционального состояния ВНЧС у детей с дистальной окклюзией, как наиболее часто встречающейся аномалии прикуса.

Цель — усовершенствовать диагностику нарушений морфофункционального состояния ВНЧС у детей с дистальной окклюзией.

Материалы и методы

Проведено обследование 24 пациентов с различными зубочелюстно-лицевыми аномалиями. Из них были определены дети, мальчики и девочки, с дистальной окклюзией в возрасте 12–15 и 15–18 лет с морфофункциональными нарушениями ВНЧС, которым проводили диагностическое обследование нарушений зубочелюстной системы по модифицированному диагностическому протоколу. Разработанная тактика диагностики состояния жевательного аппарата у детей с различными зубочелюстно-лицевыми аномалиями предполагает комплекс последовательно проводимых обследований: телерентгенографии (ТРГ), конусно-лучевой компьютерной томографии (КЛКТ), УЗИ, кинезиографии и электромиографии.

ТРГ проводили с целью изучения индивидуальных параметров лицевого скелета пациента в программе Dolphin Imaging (США), модуль Serph Tracing, для выявления зубочелюстно-лицевых аномалий, к которым относится дистальная окклюзия.

КЛКТ позволила исследовать состояние компактного и губчатого костного вещества, а также обнаружить нарушения формы, размера и соотношения костных элементов ВНЧС.

УЗИ определило состояние и дислокацию суставного диска, состояние хрящевой ткани,

наличие выпота в суставной щели ВНЧС, и ее размер в различных отделах.

Кинезиография и электромиография позволили определить функциональное состояние ВНЧС и мышц челюстно-лицевой области.

Результаты исследования

Результаты, полученные после проведенных в определенной последовательности диагностических процедур, позволили оценить морфофункциональное состояние ВНЧС.

1. ТРГ с изучением индивидуальных параметров лицевого скелета пациента в программе Dolphin Imaging (США). Данный метод рентгенографии позволяет выявить наличие зубочелюстно-лицевой аномалии. Для анализа положения зубов и челюстей применяли следующие параметры: углы SNA, SNB, ANB, FMA, U1-SN, L1-MP (IMPA), U1-L1 (межрезцовый угол), U1-NA, L1-NB, U1-PalatalPlane; измеряли, мм: L1 protrusion, U6-PT, L1-MP, U6-PP, L6-MP, overbite, overjet, Wits-число, длину верхней и нижней челюстей. Для анализа высот и длин лица измеряли углы SN-Ar, нижний гониальный (Na-Go-Me), гониальный (Ar-Go-Me), переднюю общую морфологическую высоту лица (Na-Me), переднюю верхнюю высоту лица (N-ANS), переднюю нижнюю высоту лица (ANS-Me), соотношение передней верхней высоты лица к передней нижней, заднюю морфологическую высоту лица, соотношение задней морфологической высоты лица к передней морфологической, высоту ветви нижней челюсти (Ar-Go), наклон окклюзионной плоскости к переднему основанию черепа (SN). Для оценки положения структур и гармонии лица использовали угол наклона лицевой плоскости к переднему основанию черепа (SN-NPog), FacialAxis-Ricketts (NaBa-PtGn). При различных скелетных и зубоальвеолярных аномалиях прикуса возможно нарушение взаимоотношения элементов ВНЧС, поэтому наличие данных патологий может косвенно говорить об отклонениях в строении и функции сустава. Применение программы автоматического анализа ТРГ Dolphin Imaging (США) позволило повысить точность обработки цефалометрических снимков и постановки предварительного диагноза.
2. КЛКТ ВНЧС. Данный метод диагностики позволяет провести мультипроекционное рентгенологическое исследование с последующей трехмерной реконструкцией объекта. На компьютерной томограмме

отсутствуют суммационные эффекты (наложение объектов друг на друга), а отображаются только те анатомические структуры, которые располагаются в изучаемом слое. КЛКТ, в отличие от других видов томографии, позволяет точнее визуализировать мелкие костные структуры. При обнаружении методом ТРГ патологии зубочелюстной системы и подозрении на морфологические изменения в ВНЧС, КЛКТ позволяло оценить взаимоотношение костных элементов сустава, размер суставной щели ВНЧС в различных отделах, структуру кортикальной пластинки и губчатого вещества костей, а также уточнить диагноз. При выявлении перечисленных отклонений возможно изменение окружающих мягкотканых структур. Для исследования томограмм ВНЧС выбирали срез, соответствующий срединно-сагиттальной плоскости ВНЧС, которая совпадала с цефалометрическим ориентиром — латеральным краем глазницы и была параллельна срединно-сагиттальной плоскости черепа (Поляруш Н.Ф., Слесарев О.В., Поляруш М.В. Патент РФ № 2177722; 2002). Размер суставной щели в переднем, верхнем и заднем отделах измеряли по методике Н.А. Рабухиной. Анализ соотношения костных элементов проводили путем измерения углов α , β , γ в программе «Краниометрия» (Слесарев О.В., Постников М.А., Раупов Д.С., Байриков И.М. Программы для ЭВМ № 2017662860; 2017). В качестве краниометрических точек использовали центры томографического сечения костей черепа. Центр определяли по вписанной окружности в костном анатомическом образовании ВНЧС (суставном бугорке височной кости, головке нижней челюсти и слуховом проходе височной кости). После соединения краниометрических точек измеряли угловые величины (угол α характеризует положение суставного бугорка височной кости, угол β — положение наружного слухового прохода, угол γ — положение головок нижней челюсти). Применение угловых параметров, в отличие от линейных, позволяло избежать погрешностей и повысить точность измерений ввиду устранения проекционных искажений при данном способе анализа, а также определять положение костных элементов в пространстве и относительно друг друга.

3. УЗИ ВНЧС на аппарате экспертного класса Philips HD 15, позволяющем получать четкое изображение структур маленького

размера за счет применения датчиков с большей, по сравнению с аналогами, рабочей частотой, увеличивало разрешение получаемых изображений и глубину проникновения ультразвукового сигнала. Для визуализации области ВНЧС использовали линейный датчик L12-3 с апертурой 38 мм и рабочей частотой 12 МГц, для уточнения более мелких деталей применяли датчик L15-7io с апертурой 23 мм и рабочей частотой 15 МГц. Данный метод позволял изучить состояние мягких тканей сустава, к которым относятся покрывающий суставные поверхности гиалиновый хрящ, суставной диск, мышцы и связочный аппарат, а также визуализировать выпот в полости сустава. Оценивали функциональное состояние ВНЧС, а именно — характер и амплитуду движения головок нижней челюсти и суставного диска, их симметричность и скоординированность с обеих сторон, в некоторых случаях производилась видеозапись для сравнения в динамике.

4. Кинезиография нижней челюсти — графическая запись движений нижней челюсти в трех плоскостях (сагиттальной, фронтальной, горизонтальной) при выполнении определенных проб. Данное обследование позволяло оценить траекторию движения нижней челюсти, ее амплитуду, скорость, отклонения при открывании и закрывании рта, при глотании, при смещении нижней челюсти вперед и в стороны.
5. Электромиография собственных биоэлектрических потенциалов мышц головы и шеи. Оценивали функцию височных, жевательных, группы надподъязычных и грудино-ключично-сосцевидных мышц. Полученные результаты позволяли исключить патологию в мышечном комплексе и выявить нарушения окклюзии или дополнить диагноз с учетом функциональных нарушений.

После проведенных исследований ставили окончательный диагноз.

Клинический пример

Пациент П., 15 лет (рис. 1), обратился в клинику с жалобами на неправильное положение зубов, боль и щелчки в ВНЧС.

Соотношение зубных рядов по II классу Энгля (дистальная окклюзия) (рис. 2).

Результаты проведенного клинического обследования позволяют сделать вывод о наличии у пациента зубочелюстно-лицевой аномалии. На ортопантограмме пациента выявлено наличие 32 постоянных зубов,



Рис. 1. Пациент П., 15 лет, первичный прием: *a* — фас; *b* — улыбка; *c* — профиль

Fig. 1. Patient P, 15 years old: *a* — front; *b* — smile; *c* — profile

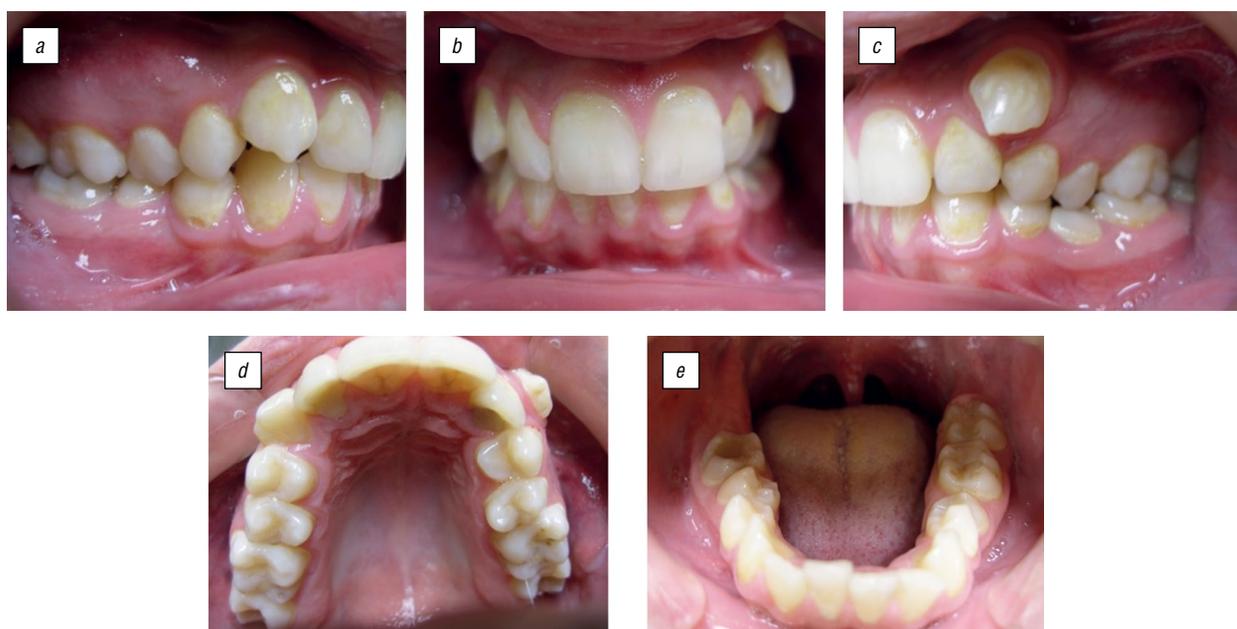


Рис. 2. Смыкание зубов-антагонистов пациента П., 15 лет: *a* — справа; *b* — передних; *c* — слева. Зубные ряды верхней челюсти (*d*); нижней челюсти (*e*)

Fig. 2. Occlusion of antagonistic teeth of patient P, 15 years old: *a* — right; *b* — front; *c* — left. Dentition upper jaw (*d*); lower jaw (*e*)



Рис. 3. Ортопантомограмма пациента П., 15 лет

Fig. 3. Panoramic image of patient P, 15 years old

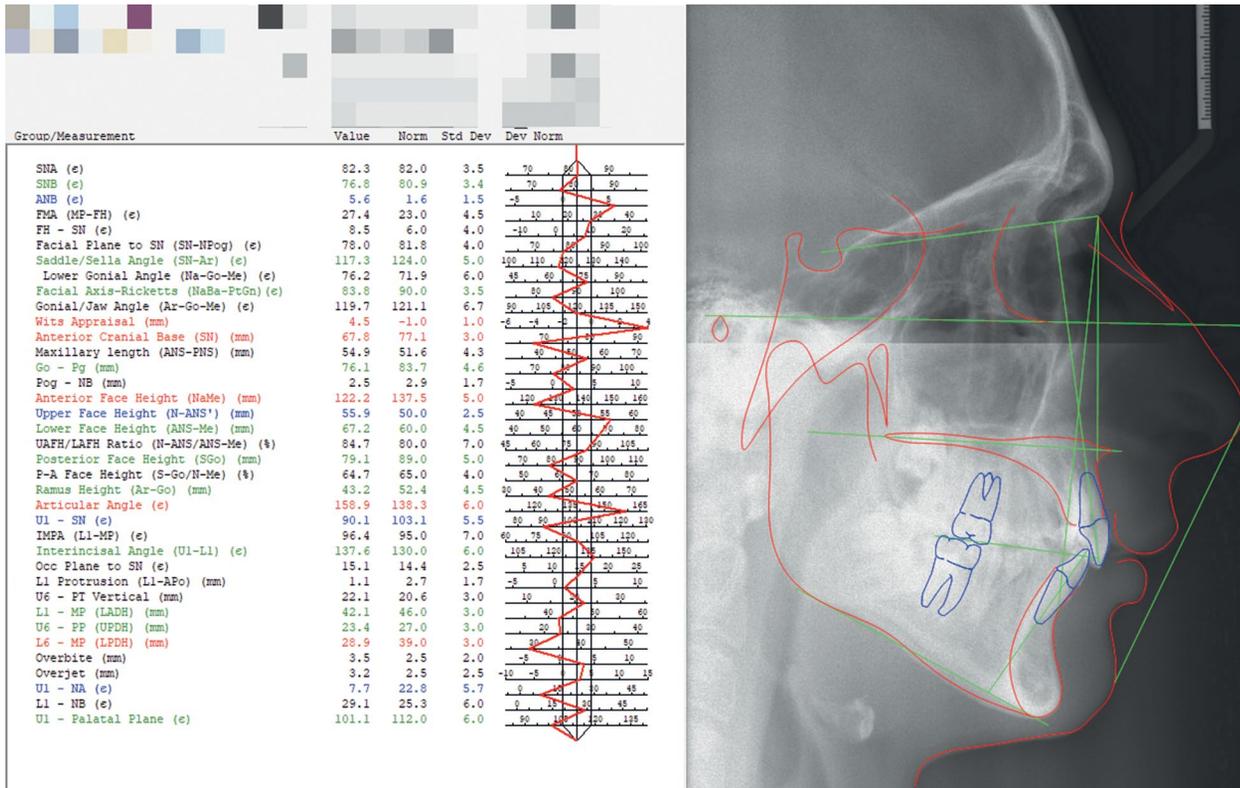


Рис. 4. Расшифровка телерентгенограммы в боковой проекции в программе Dolphin Imaging (США) пациента П., 15 лет

Fig. 4. Analysis of cephalometric image using Dolphin Imaging software (USA), patient P, 15 years old



Рис. 5. Конусно-лучевая компьютерная томограмма височно-нижнечелюстного сустава пациента П., 15 лет: *a* — при закрытом рте справа; *b* — при закрытом рте слева; *c* — при открытом рте справа; *d* — при открытом рте слева

Fig. 5. Cone-beam computed tomogram of the temporomandibular joint of patient P, 15 years old: *a* — with the closed mouth on the right; *b* — with the closed mouth on the left; *c* — with the open mouth on the right; *d* — with the open mouth on the left

зубы 1.8, 2.8, 3.8, 4.7, 4.8 находятся в ретенции (рис. 3). Для уточнения проведена ТРГ головы пациента в боковой проекции. Анализ ТРГ в боковой проекции в программе Dolphin Imaging (рис. 4) позволил поставить *предварительный диагноз* — дистальная окклюзия, гнатическая форма.

При данной аномалии прикуса возможны нарушения взаимоотношения костных элементов ВНЧС, такие как дистальное (заднее) смещение головок нижней челюсти и сужение

заднего отдела суставной щели. В связи с этим была проведена КЛКТ ВНЧС (рис. 5).

Результаты измерения размера суставной щели ВНЧС по методике Н.А. Рабухиной (рис. 6) представлены в табл. 1.

По данным КЛКТ в заднем отделе обнаружено сужение суставной щели справа и слева. В положении привычной окклюзии головки нижней челюсти смещены дистально. При открытом рте суставные головки располагаются на вершине суставных бугорков,

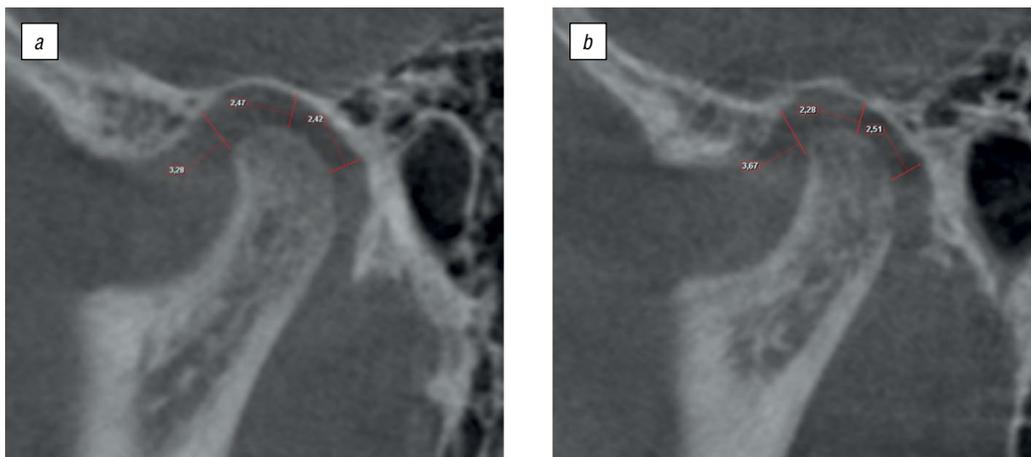


Рис. 6. Анализ томограмм височно-нижнечелюстного сустава по Н.А. Рабухиной пациента П., 15 лет: *a* — при закрытом рте справа; *b* — при закрытом рте слева

Fig. 6. Analysis of the temporomandibular joint tomograms according to N.A. Rabukhina, patient P, 15 years old: *a* — with the closed mouth on the right; *b* — with the closed mouth on the left

Таблица 1 / Table 1

Результаты измерения суставной щели височно-нижнечелюстного сустава по методике Н.А. Рабухиной
Measurement results: the size of temporomandibular joint space according to the method of N.A. Rabukhina

| Параметр | Правый височно-нижнечелюстной сустав | Левый височно-нижнечелюстной сустав |
|--|--------------------------------------|-------------------------------------|
| Ширина переднего отдела суставной щели, мм | 3,20 | 3,67 |
| Ширина среднего отдела суставной щели, мм | 2,47 | 2,20 |
| Ширина заднего отдела суставной щели, мм | 2,42 | 2,51 |

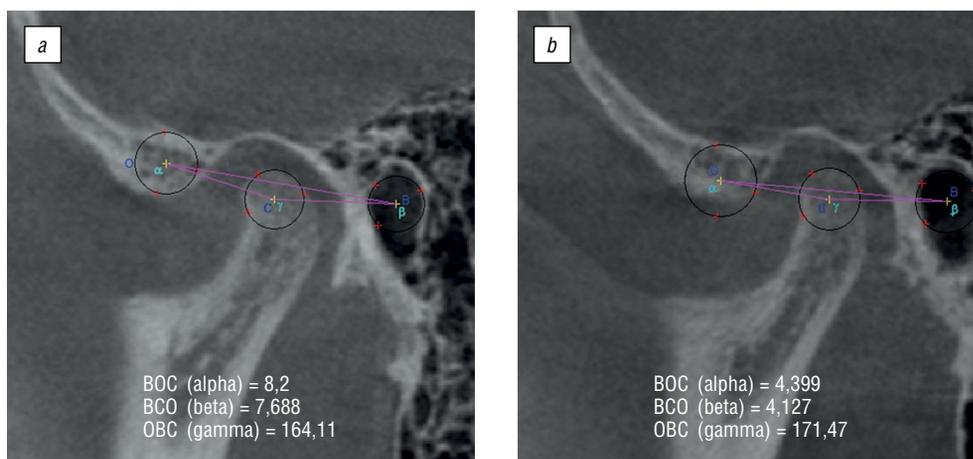


Рис. 7. Анализ угловых параметров, показывающих соотношение костных элементов височно-нижнечелюстного сустава, выполненный в программе «Краниометрия», пациента П., 15 лет: *a* — при закрытом рте справа; *b* — при закрытом рте слева

Fig. 7. Analysis of the angular parameters showing the ratio of bone elements of the temporomandibular joint, performed in the “Cranio-metry” program, patient P, 15 years old: *a* — with the closed mouth on the right; *b* — with the closed mouth on the left

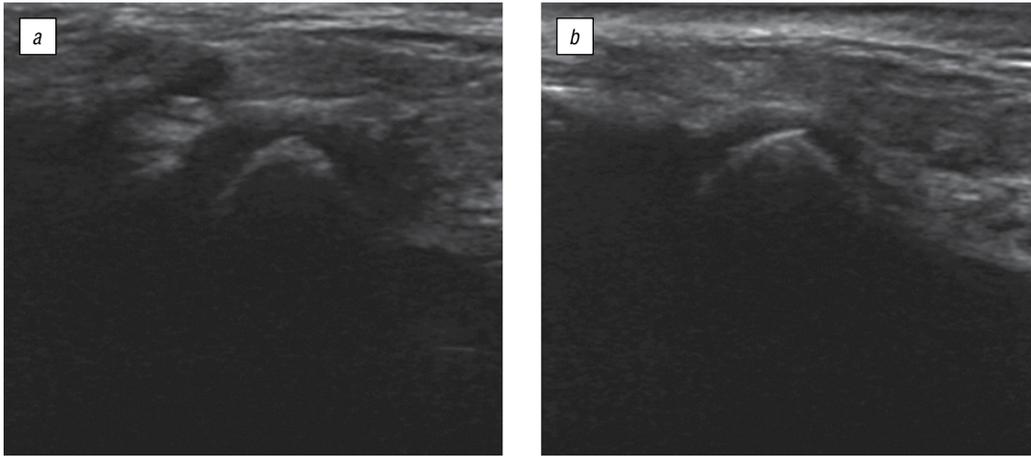


Рис. 8. Ультразвуковое исследование височно-нижнечелюстного сустава пациента П., 15 лет: *a* — справа; *b* — слева

Fig. 8. Ultrasound of the temporomandibular joint, patient P., 15 years old: *a* — on the right; *b* — on the left

что соответствует норме. Анализ угловых параметров, проведенный в программе «Краниометрия», показал отклонения в соотношении костных элементов ВНЧС. Для правого ВНЧС угол α — $8,2^\circ$, угол β — $7,688^\circ$, угол γ — $164,11^\circ$; для левого — $4,399^\circ$, $4,127^\circ$, $171,47^\circ$ соответственно. Также была выявлена асимметрия в расположении суставных элементов между правым и левым ВНЧС (рис. 7).

После проведенного исследования был поставлен *уточненный диагноз*: дистальная окклюзия, гнатическая форма, сужение заднего отдела суставной щели ВНЧС, дистальное смещение головок нижней челюсти.

Полученные данные КЛКТ позволяют говорить о возможном изменении состояния окружающих сустав мягкотканых структур, нарушении дислокации суставного диска ВНЧС и нарушении функционирования ВНЧС. Для дальнейшего уточнения поставленного диагноза было проведено УЗИ ВНЧС (рис. 8).

По полученным результатам с обеих сторон определяется: неровность контуров головок нижней челюсти с участками повышенной и пониженной эхогенности, что говорит об изменении гиалинового хряща суставной поверхности; значительное уменьшение капсульно-шеечного пространства, когда капсула сустава имеет неровный, нечеткий контур, уплощенную форму; амплитуды движения нижней челюсти в пределах нормы; латеральные крыловидные мышцы не изменены. При открывании рта наблюдается проскакивание головок на свое привычное положение через задний полюс суставного диска, при этом возникает щелчок, в конце закрывания рта суставная головка перемещается кзади от диска, пока не наступит смыкание зубных рядов,

при этом диск со вторым щелчком отесняется головкой кпереди.

Уточненный диагноз: дистальная окклюзия, гнатическая форма, сужение заднего отдела суставной щели ВНЧС, дистальное смещение головок нижней челюсти, вентральная дислокация суставного диска.

Полученные результаты исследований показали, что у пациента имеются нарушение функции ВНЧС, наличие и характер которого можно определить при проведении кинезиографии. Выявлены неоднородное движение нижней челюсти при открывании-закрывании рта; дефлексия нижней челюсти при максимальном открывании рта вправо на 5,97 мм; амплитуда движений в норме; скорость опускания (210 мм/с) и скорость поднимания нижней челюсти увеличены (314 мм/с) (норма опускания — 171–197 мм/с, поднимания — 264–295 мм/с); значение диагонали уменьшено (43,7 мм) и значение рабочего угла выше нормы ($41,21^\circ$) (норма диагонали — 50,77–51 мм, рабочего угла — $38,86$ – 40°). Несовпадение графиков «Миоцентрика» и «Глотание», функция глотания нарушена. Амплитуда движения графика «Миоцентрика» в пределах нормы (1,5 мм), график смещается во фронтальной плоскости влево. При проведении проб «Протрузия» и «Движение нижней челюсти вправо-влево» обнаружена нестабильность контактов. Амплитуда движений графика «Протрузия» уменьшена, во фронтальной плоскости при максимальном выдвигании нижней челюсти вперед график смещается влево, ниже нормы в сагиттальной плоскости. При проведении пробы «Движение нижней челюсти вправо-влево» при смещении нижней челюсти вправо во фронтальной проекции амплитуда графика выше нормы, при смещении

Таблица 2 / Table 2

Результаты электромиографии мышц челюстно-лицевой области пациента П., 15 лет
Results of electromyography of the maxillofacial region, patient P., 15 years old

| Проба | Мышца | Средняя амплитуда, мкВ | |
|--|----------------------------------|------------------------|---------------|
| | | правая сторона | левая сторона |
| Состояние относительного физиологического покоя | <i>m. temporalis</i> | 5 | 4 |
| | <i>m. masseter</i> | 3 | 3 |
| | <i>mm. suprahyoidei</i> | 3 | 4 |
| | <i>m. sternocleidomastoideus</i> | 7 | 9 |
| Первичный контакт зубов-антагонистов верхней и нижней челюстей | <i>m. temporalis</i> | 12 | 12 |
| | <i>m. masseter</i> | 3 | 4 |
| | <i>mm. suprahyoidei</i> | 3 | 4 |
| | <i>m. sternocleidomastoideus</i> | 7 | 9 |
| Состояние относительного физиологического покоя стоя | <i>m. temporalis</i> | 5 | 6 |
| | <i>m. masseter</i> | 4 | 3 |
| | <i>mm. suprahyoidei</i> | 5 | 5 |
| | <i>m. sternocleidomastoideus</i> | 7 | 10 |
| Повторные окклюзионные контакты | <i>m. temporalis</i> | 24 | 31 |
| | <i>m. masseter</i> | 9 | 42 |
| | <i>mm. suprahyoidei</i> | 5 | 5 |
| | <i>m. sternocleidomastoideus</i> | 7 | 9 |
| Глотание | <i>m. temporalis</i> | 33 | 18 |
| | <i>m. masseter</i> | 8 | 14 |
| | <i>mm. suprahyoidei</i> | 59 | 49 |
| | <i>m. sternocleidomastoideus</i> | 10 | 10 |
| Максимальное сжатие челюстей | <i>m. temporalis</i> | 85 | 78 |
| | <i>m. masseter</i> | 23 | 60 |
| | <i>mm. suprahyoidei</i> | 6 | 6 |
| | <i>m. sternocleidomastoideus</i> | 7 | 9 |
| Функциональная проба при нагрузке | <i>m. temporalis</i> | 116 | 107 |
| | <i>m. masseter</i> | 138 | 150 |
| | <i>mm. suprahyoidei</i> | 21 | 19 |
| | <i>m. sternocleidomastoideus</i> | 9 | 10 |

влево — ниже нормы во фронтальной плоскости. Результаты исследования указывают на функциональные изменения правого ВНЧС и позволяют предположить изменения в работе мышц челюстно-лицевой области.

Уточненный диагноз: дистальная окклюзия, гнатическая форма, сужение заднего отдела суставной щели ВНЧС, дистальное смещение головок нижней челюсти, вентральная дислокация суставного диска, функциональные изменения правого ВНЧС.

Поскольку по данным кинезиографии выявлены изменения движения нижней челюсти мышечного генеза, необходимо проведение электромиографии для выявления нарушения в работе мышц челюстно-лицевой области, так как данный фактор является важным звеном в патогенезе дисфункции ВНЧС. Результаты исследования представлены в табл. 2.

В пробах «Состояние относительного физиологического покоя», «Первичный контакт

зубов-антагонистов верхней и нижней челюстей», «Состояние относительного физиологического покоя стоя» наблюдается гипертонус правой и левой *m. temporalis*, правой и левой *m. sternocleidomastoideus*. При глотательной пробе испытывают нагрузку правые и левые *m. temporalis*, *m. masseter*, *mm. suprahyoidei*, *m. sternocleidomastoideus* (нарушение функции глотания). При проведении пробы «Повторные окклюзионные контакты» биопотенциалы *m. masseter*, *m. temporalis* левой стороны выше, чем правой. Во время пробы «Максимальное сжатие челюстей» наблюдается асимметричная работа мышц: биопотенциалы *m. temporalis* правой стороны выше, чем левой, левая *m. masseter* нагружена больше, чем правая, но мышцы недогружены, вовлечены *mm. suprahyoidei* и *m. sternocleidomastoideus*. В пробе «Функциональная проба при нагрузке (с валиками)» увеличивается нагрузка *m. temporalis*, *m. masseter* справа и слева.

Окончательный диагноз: дистальная окклюзия, гнатическая форма, сужение заднего отдела суставной щели ВНЧС, дистальное смещение головок нижней челюсти, вентральная дислокация суставного диска, функциональные изменения правого ВНЧС, асимметрия и дискоординация в работе жевательных мышц, гипертонус правой и левой *m. temporalis*.

Заключение

Модифицированный подход в проведении последовательного диагностического обследования детей с дистальной окклюзией путем оценки морфофункционального состояния ВНЧС с применением методов телерентгенографии, конусно-лучевой компьютерной томографии, кинезиографии, электромиографии и ультразвукового исследования позволяет оценить состояние мягкотканых элементов и костных структур ВНЧС и граничащих областей, а также определить размер суставной щели ВНЧС и соотношение костных элементов сустава.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информированное согласие на публикацию. Авторы получили письменное согласие законных представителей пациента на публикацию медицинских данных и фотографий.

Список литературы

1. Васильев А.Ю. Лучевая диагностика в стоматологии: национальное руководство / под ред. А.Ю. Васильева. М., 2010.

2. Костина И.Н., Кочмашева В.В. Ультразвуковая диагностика остеоартроза височно-нижнечелюстного сустава // Проблемы стоматологии. 2016. Т. 12, № 2. С. 86–94. DOI: 10.18481/2077-7566-2016-12-2-86-94
3. Постников М.А., Слесарев О.В., Андриянов Д.А., Осадчая Е.И. Конусно-лучевая томография и ультразвуковая визуализация в комплексной оценке анатомо-функционального состояния височно-нижнечелюстного сустава // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 5. С. 86.
4. Постников М.А., Трунин Д.А., Панкратова Н.В., Слесарев О.В. Клинико-рентгенологические методы диагностики в стоматологии: учебное пособие. Самара, 2021.
5. Проффит У.Р. Современная ортодонтия: пер. с англ. / под ред. Л.С. Персина. М., 2006.
6. Семкин В.А., Рабухина Н.А., Волков С.И. Патология височно-нижнечелюстных суставов. М., 2011.
7. Фадеев Р.А., Кузакова А.В. Клиническая цефалометрия: учебное пособие по диагностике в ортодонтии / под ред. Р.А. Фадеева. СПб., 2009.
8. Фанакин В.А., Дубровина М.Е., Филимонова О.И. Опыт ультразвуковой диагностики функциональных нарушений височно-нижнечелюстного сустава у детей // Уральский медицинский журнал. 2010. № 8(73). С. 49–51.
9. Постников М.А., Слесарев О.В., Трунин Д.А. и др. Автоматизированный анализ рентгеновских изображений височно-нижнечелюстного сустава у пациентов с ортогнатическим прикусом и физиологической окклюзией // Вестник рентгенологии и радиологии. 2019. Т. 100, № 1. С. 6–14. DOI: 10.20862/0042-4676-2019-100-1-6-14

References

1. Vasil'ev AYu. Luchevaya diagnostika v stomatologii: natsional'noe rukovodstvo. Ed. by A.Yu. Vasil'ev. Moscow, 2010. (In Russ.)
2. Kostina IN, Kochmasheva VV. Ultrasound diagnostics of the temporomandibular joint osteoarthritis. *Actual problems in dentistry*. 2016;12(2):86–94. (In Russ.). DOI: 10.18481/2077-7566-2016-12-2-86-94
3. Postnikov MA, Slesarev OV, Andriyanov DA, Osadchaya EI. Cone-beam computed tomography and ultrasound imaging in a comprehensive assessment of the anatomical and functional state of the temporomandibular joint. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2019;5:86. (In Russ.)
4. Postnikov MA, Trunin DA, Pankratova NV, Slesarev OV. Kliniko-rentgenologicheskie metody diagnostiki v stomatologii: uchebnoe posobie. Samara; 2021. (In Russ.)
5. Proffit WR. *Sovremennaya ortodontiya*: per. s angl. Ed. by L.S. Persin. Moscow; 2006. (In Russ.)
6. Semkin VA, Rabukhina NA, Volkov SI. *Patologiya visochno-nizhnechelyustnykh sustavov*. Moscow; 2011. (In Russ.)

7. Fadeev RA, Kuzakov AV. Klinicheskaya tsefalometriya: uchebnoe posobie po diagnostike v ortodontii. Ed. by R.A. Fadeev. Saint Petersburg; 2009. (In Russ.)
8. Fanakin VA, Dubrovina ME, Filimonova OI. Experience of ultrasound diagnosis of functional violations of the temporomandibular joint in children. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2010;(8):49–51. (In Russ.)
9. Postnikov MA, Slesarev OV, Trunin DA, et al. Automated analysis of x-ray images of the temporomandibular joint in patients with orthognathic bite and physiological occlusion. *Journal of radiology and nuclear medicine*. 2019;100(1):6–14. (In Russ.). DOI: 10.20862/0042-4676-2019-100-1-6-14

▪ Информация об авторах

Дмитрий Александрович Андриянов — очный аспирант кафедры терапевтической стоматологии. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет»; врач-ортодонт. ООО «Многопрофильная клиника Постникова», Самара, Россия.
E-mail: d.andriyanov1994@yandex.ru

▪ Information about the authors

Dmitry A. Andriyanov — Postgraduate student, Department of Therapeutic Dentistry. Samara State Medical University; Orthodontist. LLC "Postnikov's Multidisciplinary Clinic", Samara, Russia. E-mail: d.andriyanov1994@yandex.ru