



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ МЕЖВУЗОВСКИЙ ЖУРНАЛ

АСПИРАНТСКИЙ
ВЕСТНИК

Поволжья

ISSN 2072-2354
eISSN 2410-3764

<https://aspvestnik.com>

SCIENTIFIC-PRACTICAL INTERCOLLEGIATE JOURNAL

ASPIRANTSKIY VESTNIK

Dovolzh'ya

МЕДИЦИНА



16+

Том 22 (4)

2022



Учредитель журнала – Ассоциация вузов Самарской области
«Самарский региональный научно-образовательный комплекс»

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Котельников Г.П. – академик РАН, д-р мед. наук,
профессор (Самара, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Колсанов А.В. – профессор РАН, д-р мед. наук,
профессор (Самара, Россия)

Давыдкин И.Л. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

Золотовская И.А. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Бабанов С.А. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

МЕЖДУНАРОДНАЯ РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Авдеева Е.В. – д-р фарм. наук, профессор (Самара, Россия)

Бахтиярова К.З. – д-р мед. наук, профессор (Уфа, Россия)

Бессмельцев С.С. – д-р мед. наук, профессор

(Санкт-Петербург, Россия)

Болотова Н.В. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Бородулина Е.А. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Булгакова С.В. – д-р мед. наук, доцент (Самара, Россия)

Валишин Д.А. – д-р мед. наук, профессор (Уфа, Россия)

Вербовой А.Ф. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Вертянкин С.В. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Владимирова Т.Ю. – канд. мед. наук, доцент (Самара, Россия)

Ганцев Ш.Х. – д-р мед. наук, профессор (Уфа, Россия)

Герасимова Л.П. – д-р мед. наук, профессор (Уфа, Россия)

Гладунова Е.П. – д-р фарм. наук, доцент (Самара, Россия)

Горемыкин В.И. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Демин Д.Б. – д-р мед. наук, профессор (Оренбург, Россия)

Дупляков Д.В. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Жестков А.В. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Измалков С.Н. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Каганов О.И. – д-р мед. наук, доцент (Самара, Россия)

Калинин В.А. – д-р мед. наук, доцент (Самара, Россия)

Каменских Т.Г. – д-р мед. наук, доцент (Саратов, Россия)

Кароли Н.А. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Козлов С.В. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Константинов Д.Ю. – д-р мед. наук, доцент (Самара, Россия)

Корымасов Е.А. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Купаев В.И. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Куркин В.А. – д-р фарм. наук, профессор (Самара, Россия)

Ларцев Ю.В. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Лепилин А.В. – член-корр. РАЕН, д-р мед. наук,

профессор (Саратов, Россия)

Липатов И.С. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Лихтенберг А. – доктор медицины (Дюссельдорф, Германия)

Мазур Л.И. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Макаров И.В. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Малов В.М. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Мареев О.В. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Межебовский В.Р. – д-р мед. наук, профессор (Оренбург, Россия)

Митрошин А.Н. – д-р мед. наук, профессор (Пенза, Россия)

Момот А.П. – д-р мед. наук, профессор (Барнаул, Россия)

Мухаммадеев Т.Р. – д-р мед. наук, доцент (Уфа, Россия)

Низамова Р.С. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Новокрещенова И.Г. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Норкин И.А. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Осадчук А.М. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Павлов В.Н. – член-корр. РАН, д-р мед. наук, профессор (Уфа, Россия)

Петрухина И.К. – д-р фарм. наук, доцент (Самара, Россия)

Печуров Д.В. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Повереннова И.Е. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Полуконова Н.В. – д-р биол. наук (Саратов, Россия)

Попков В.М. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Попов Е.А. – д-р мед. наук, профессор (Астрахань, Россия)

Посенкова О.М. – д-р мед. наук, доцент (Саратов, Россия)

Савельева Е.Е. – д-р мед. наук, доцент (Уфа, Россия)

Сайганов С.А. – д-р мед. наук, профессор (Санкт-Петербург, Россия)

Сайфутдинов Р.И. – д-р мед. наук, профессор (Оренбург, Россия)

Салов И.А. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Солоникина А.В. – д-р фарм. наук, доцент (Пермь, Россия)

Сонис А.Г. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Сушков С.А. – канд. мед. наук, доцент (Витебск, Беларусь)

Рогожина И.Е. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Трунин Д.А. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Фаризон Ф. – д-р мед. наук, профессор (Сент-Этьен, Франция)

Фархутдинова Л.М. – д-р мед. наук, профессор (Уфа, Россия)

Федорина Т.А. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Халиуллин Ф.А. – д-р фарм. наук, профессор (Уфа, Россия)

Черненко Ю.И. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шапкин Ю.Г. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шварц Ю.Г. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шоломов И.И. – член-корр. РАЕН, д-р мед. наук,

профессор (Саратов, Россия)

Шульдяков А.А. – д-р мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

Шукин Ю.В. – д-р мед. наук, профессор (Самара, Россия)

Явелов И.С. – д-р мед. наук, профессор (Москва, Россия)

Янов Ю.К. – академик РАН, д-р мед. наук, профессор

(Санкт-Петербург, Россия)

Зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий
и массовых коммуникаций (Роскомнадзор) 10.07.2002. Регистрационный № ФС 77-13193.

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых
научных журналов ВАК:

Клиническая медицина

- 3.1.3. Оториноларингология
- 3.1.4. Акушерство и гинекология
- 3.1.5. Офтальмология
- 3.1.7. Стоматология
- 3.1.8. Травматология и ортопедия
- 3.1.13. Урология и андрология
- 3.1.19. Эндокринология
- 3.1.20. Кардиология
- 3.1.22. Инфекционные болезни
- 3.1.24. Неврология
- 3.1.29. Пульмонология

Фармацевтические науки

- 3.4.2. Фармацевтическая химия,
фармакогнозия
- 3.4.3. Организация
фармацевтического дела
- Полнотекстовые версии всех
номеров размещены на сайте
Научной Электронной библиотеки:
www.elibrary.ru
- Открытый доступ к архивам
и текущим номерам:
<https://aspvestnik.com/>

Информация о подписке:
подписной индекс 42023
(каталог «Пресса России»)

Адрес издательства:
ул. Чапаевская, 89,
г. Самара, Россия, 443099.
Тел.: + 7 (846) 374 10 04.
E-mail: edition@innoscience.ru

Выпускающий редактор:
Стефанская А.В.
(e-mail: a.v.stefanskaya@samsmu.ru)
Переводчик: Борисова Н.В.
Корректор: Чайникова И.Н.
Верстка: Овчинникова Т.И.

Подписано в печать: 19.12.2022
Выход в свет: 28.12.2022
Отпечатано: ООО «Типография Фурсова».
ул. Заставская, 14а, литер М,
Санкт-Петербург, 196084.
Тел.: + 7 (812) 646 33 77.
E-mail: lv@express-reklama.ru
Формат 60 × 90 мм. Печать офсетная.
Заказ: 2-9463-1v. Цена свободная.
Усл. печ. л. 9.
Тираж 250 экз.

Перепечатка и любое воспроизведение
материалов и иллюстраций журнала
«Аспирантский вестник Поволжья»
возможны только с письменного
разрешения издательства.

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

EDITOR-IN-CHIEF

Kotelnikov G.P. – Academician of RAS, PhD, Professor (Samara, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Kolsanov A.V. – Professor of RAS, PhD, Professor (Samara, Russia)

Davydov I.L. – PhD, Professor (Samara, Russia)

SCIENCE EDITOR

Zolotovskaya I.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

EXECUTIVE SECRETARY

Babanov S.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

Avdeeva E.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Bahtiyarova K.Z. – PhD, Professor (Ufa, Russia)

Bessmeltsev S.S. – PhD, Professor (Saint Petersburg, Russia)

Bolotova N.V. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Borodulina E.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Bulgakova S.V. – PhD, Associate professor (Samara, Russia)

Valishin D.A. – PhD, Professor (Ufa, Russia)

Verbovoi A.F. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Vertyankin S.V. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Vladimirova T.Yu. – PhD, Associate professor (Samara, Russia)

Gancev Sh.H. – PhD, Professor (Ufa, Russia)

Gerasimova L.P. – PhD, Professor (Ufa, Russia)

Gladunova E.P. – PhD, Associate professor (Samara, Russia)

Goremykin V.I. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Demin D.B. – PhD, Professor (Orenburg, Russia)

Duplyakov D.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Zhestkov A.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Izmailov S.N. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Kaganov O.I. – PhD, Associate professor (Samara, Russia)

Kalinin V.A. – PhD, Associate professor (Samara, Russia)

Kamenskikh T.G. – PhD, Associate professor (Saratov, Russia)

Karoli N.A. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Kozlov S.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Konstantinov D.Yu. – PhD, Associate professor (Samara, Russia)

Korymasov E.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Kupaev V.I. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Kurkin V.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Larcev Yu.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Lepilin A.V. – Corresponding Member of RANS, PhD,
Professor (Saratov, Russia)

Lipatov I.S. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Lichtenberg A. – PhD, Professor (Dusseldorf, Germany)

Mazur L.I. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Makarov I.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Malov V.M. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Mareev O.V. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Mezhebovskii V.R. – PhD, Professor (Orenburg, Russia)

Mitroshin A.N. – PhD, Professor (Penza, Russia)

Momot A.P. – PhD, Professor (Barnaul, Russia)

Muhamadeev T.R. – PhD, Associate professor (Ufa, Russia)

Nizamova R.S. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Novokreshchenova I.G. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Norkin I.A. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Osadchuk A.M. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Pavlov V.N. – Corresponding Member of RAS, PhD,
Professor (Ufa, Russia)

Petrushina I.K. – PhD, Associate professor (Samara, Russia)

Pechkurov D.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Poverennova I.E. – PhD, Professor (Samara, Russia)

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

Popkov V.M. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Popov E.A. – PhD, Professor (Astrakhan, Russia)

Posnenkova O.M. – PhD, Associate professor (Saratov, Russia)

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

Saiganov S.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Saifutdinov R.I. – PhD, Professor (Orenburg, Russia)

Salov I.A. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Soloninina A.V. – PhD, Associate professor (Perm, Russia)

Sonis A.G. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Sushkov V.A. – PhD, Associate professor (Vitebsk, Belarus)

Rogozhina I.E. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Trunin D.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Farizon F. – PhD, Professor (Saint-Etienne, France)

Farkhutdinova L.M. – PhD, Professor (Ufa, Russia)

Fedorina T.A. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Haliullin F.A. – PhD, Professor (Ufa, Russia)

Chernenkov Yu.I. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Shapkin Yu.G. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Shvarc Yu.G. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Sholomov I.I. – Corresponding Member of RANS, PhD,
Professor (Saratov, Russia)

Shuldyakov A.A. – PhD, Professor (Saratov, Russia)

Shchukin Yu.V. – PhD, Professor (Samara, Russia)

Yavelov I.S. – PhD, Professor (Moscow, Russia)

Yanov Yu.K. – Academician of RAS, PhD, Professor
(Saint Petersburg, Russia)

**Registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor)
10.07.2002. Registration number FS 77-13193.**

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications of the Supreme Examinations Board (VAK).

All issues are in full-text format and can be
found on-line in Scientific Electronic Library:
www.elibrary.ru

Journal archive: <https://aspvestnik.com/>
Archive and current issues have open access.

The reproduction of the content of the Journal
"Aspirantskiy vestnik Povolzhiya" is not allowed
without the prior written permission of the
Publisher.

Address: 89 Chapayevskaya st.,
Samara, Russia, 443099.
Tel.: + 7 (846) 374 10 04.
E-mail: edition@innoscience.ru

Managing Editor: *Stefanskaya A.V.*
(e-mail: a.v.stefanskaya@samsmu.ru)
Translator: *Borisova N.V.*
Proofreader: *Chainikova I.N.*
Page layout: *Ovchinnikova T.I.*

Passed for printing:
19.12.2022
Printed by: Fursov
Printing House LLC,
14A letter M Zastavskaya st.,
St. Petersburg, 196084.
Tel.: + 7 (812) 646 33 77.
E-mail: lv@express-reklama.ru

© Aspirantskiy vestnik Povolzhiya

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

О.В. Ковалева, К.А. Конева
Новая коронавирусная SARS-CoV-2 инфекция, ассоциированная с респираторно-синцитиальным вирусом у ребенка первого месяца жизни

Н.И. Усольцева, Г.Г. Марьин, Е.А. Медведева, Г.А. Горбешко
Особенности условий труда и психологического статуса медицинских сотрудников в период пандемии COVID-19

ОРГАНИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ДЕЛА

П.Р. Блинкова, И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, Т.К. Рязанова, Е.П. Гладунова
Особенности популяционного потребления антигипертензивных лекарственных препаратов в отдельных субъектах Российской Федерации

А.А. Елескина, Н.В. Пятигорская, О.В. Филиппова
Сравнительный анализ требований к содержанию протоколов клинических исследований в международных нормативных документах

СТОМАТОЛОГИЯ

М.А. Постников, А.В. Винник, Р.Р. Рахимов, И.А. Костионова-Овод, С.В. Винник
Современные аспекты этиопатогенеза рецессии десны

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ

Л.С. Аносова, И.П. Ремезова, А.М. Агафонов
Разработка методики анализа клопидогрела с использованием ВЭЖХ и ее валидация

А.И. Васькова, В.А. Куркин
Актуальные аспекты качественного и количественного анализа тысячелистника обыкновенного (*Achillea Millefolium* L.)

А.Е. Савельева, А.В. Куркина
Компонентный состав флавоноидов соцветий бархатцев отклоненных (*Tagetes Patula* L.)

П.С. Сахарова, В.С. Пыжов, Е.О. Бахрушина
Поли(Л-лактид-со-гликолид) и шеллак в разработке фазочувствительных *in situ* имплантатов

Ю.А. Селиванова, А.И. Сливкин, А.А. Вервикина, Н.А. Дьякова
Изучение особенностей накопления флавоноидов травой горца птичьего синантропной флоры Ростовской области

Н.С. Соколов, С.Х. Шарипова, К.Н. Сазанова, А.В. Лямин
Сравнительная антимикробная активность водных извлечений из надземных органов лабазника вязолистного (*Filipendula Ulmaria* (L.) Maxim.) и лабазника шестилепестного (*Filipendula Hexapetala* Gilib.)

А.С. Шереметьева, О.Г. Шаповал, Н.А. Дурнова
Антимикробная активность экстракта *Thymus marshallianus* в отношении клинических штаммов *S. aureus* и *C. albicans*

INFECTIOUS DISEASES

4 Oksana V. Kovaleva, Kristina A. Koneva
A new SARS-CoV-2 coronavirus infection associated with respiratory syncytial virus in a child of the first month of life

9 Natalya I. Usoltseva, German G. Maryin, Evgeniya A. Medvedeva, Gerasim A. Gorbeshko
Working conditions and psychological status of medical staff during the COVID-19 pandemic

ORGANIZATION OF THE PHARMACEUTICAL BUSINESS

14 Polina R. Blinkova, Irina K. Petrukhnina, Petr A. Lebedev, Tatyana K. Ryzanova, Elena P. Gladunova
A structure of the antihypertensive drugs consumption in the population of several regions of the Russian Federation

23 Anastasiya A. Eleskina, Natalya V. Pyatigorskaya, Olga V. Filippova
A comparative analysis of content requirements for clinical trials protocols in international regulatory documents

DENTISTRY

27 Mikhail A. Postnikov, Anastasiya V. Vinnik, Ruslan R. Rakhimov, Irina A. Kostionova-Ovod, Sergei V. Vinnik
Etiopathogenesis of gum recession: the current aspects

PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, PHARMACOGNOSY

33 Lyudmila S. Anosova, Irina P. Remezova, Aleksei M. Agafonov
Development and validation of a methodology for HPLC analysis of clopidogrel

40 Anastasiya I. Vaskova, Vladimir A. Kurkin
Current aspects of qualitative and quantitative analysis of common yarrow (*Achillea Millefolium* L.)

47 Anna E. Saveleva, Anna V. Kurkina
The composition of flavonoids in the inflorescences of spreading marigold (*Tagetes patula* L.)

51 Polina S. Sakharova, Viktor S. Pyzhov, Elena O. Bakhrushina
Poly(L-lactide-co-glycolide) and shellac in the development of phase-sensitive *in situ* implants

58 Yuliya A. Selivanova, Aleksei I. Slivkin, Alisa A. Vervikina, Nina A. Dyakova
The study of flavonoids accumulation by the herb *Polygonum aviculare* of the synanthropic flora of the Rostov Region

63 Nikita S. Sokolov, Safia Kh. Sharipova, Kseniya N. Sazanova, Artem V. Lyamin
A comparative evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from aerial organs of meadowsweet (*Filipendula Ulmaria* (L.) Maxim.) and dropwort (*Filipendula Hexapetala* Gilib.)

69 Anna S. Sheremetyeva, Olga G. Shapoval, Natalya A. Durnova
The antimicrobial activity of *Thymus marshallianus* extract against clinical cultures *S. aureus* and *C. albicans*

3.1.22. ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ / INFECTIOUS DISEASES

УДК [616.98:578.834.1]-053.3

DOI: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.4-8

НОВАЯ КОРОНАВИРУСНАЯ SARS-CoV-2 ИНФЕКЦИЯ, АССОЦИИРОВАННАЯ С РЕСПИРАТОРНО-СИНЦИТИАЛЬНЫМ ВИРУСОМ У РЕБЕНКА ПЕРВОГО МЕСЯЦА ЖИЗНИ

О.В. Ковалева, К.А. Конева

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный медицинский университет» Минздрава России (Оренбург, Россия)

Для цитирования: Ковалева О.В., Конева К.А. Новая коронавирусная SARS-CoV-2 инфекция, ассоциированная с респираторно-синцициальным вирусом у ребенка первого месяца жизни. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):4-8.

doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.4-8

■ Сведения об авторах

Ковалева О.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры эпидемиологии и инфекционных болезней. ORCID: 0000-0003-3701-7175

E-mail: oksana_kovaleva_73@list.ru

Конева К.А. – ординатор кафедры эпидемиологии и инфекционных болезней. E-mail: necheukhina98@mail.ru

Рукопись получена: 23.03.2022

Рецензия получена: 25.09.2022

Решение о публикации: 26.09.2022

■ Аннотация

В статье представлен клинический случай сочетанного течения новой коронавирусной SARS-CoV-2 и РСВ-инфекций у ребенка раннего возраста с врожденным пороком сердца. Заболевание начиналось типично, с умеренно выраженных катаральных явлений и интоксикации, ухудшение состояния ребенка отмечалось к третьему дню от начала болезни и было связано с развитием пневмонии и тяжелой дыхательной недостаточности. Болезнь прогрессировала увеличением поражения легочной ткани и появлением полиорганной патологии (сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочевыделительной, нервной систем).

Выявлено, что новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2, ассоциированная с РСВ-инфекцией, у ребенка раннего возраста протекает тяжело, с развитием полиорганной недостаточности, что в данном случае усугубилось коморбидностью пациента (ВПС) и неблагоприятным преморбидным фоном. Несмотря на крайне тяжелое течение, случай закончился благополучно.

С учетом риска развития микст-инфекций у новорожденных важна настороженность врача-педиатра, постоянное динамическое наблюдение и профилактические мероприятия, направленные на предотвращение возникновения осложнений у таких детей.

■ **Ключевые слова:** новая коронавирусная SARS-CoV-2 инфекция, респираторно-синцициальный вирус, дети.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

■ Список сокращений

PCB – респираторно-синцициальный вирус; ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки; ДН – дыхательная недостаточность; ДМПП – дефект межпредсердной перегородки.

A NEW SARS-COV-2 CORONAVIRUS INFECTION ASSOCIATED WITH RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS IN A CHILD OF THE FIRST MONTH OF LIFE

Oksana V. Kovaleva, Kristina A. Koneva

Orenburg State Medical University (Orenburg, Russia)

Citation: Kovaleva OV, Koneva KA. A new SARS-Cov-2 coronavirus infection associated with respiratory syncytial virus in a child of the first month of life. *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya*. 2022;22(4):4-8. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.4-8

■ Information about authors

Oksana V. Kovaleva – PhD, Associate professor, Department of Epidemiology and infectious diseases. ORCID: 0000-0003-3701-7175

E-mail: oksana_kovaleva_73@list.ru

Kristina A. Koneva – a resident of the Department of Epidemiology and infectious diseases. E-mail: necheukhina98@mail.ru

Received: 23.03.2022

Revision Received: 25.09.2022

Accepted: 26.09.2022

■ Abstract

The article presents a clinical case of a combined course of a new coronavirus (SARS-CoV-2) and respiratory syncytial virus (RSV) infections in a young child with congenital heart disease. The disease began typically, with moderately severe catarrhal phenomena and intoxication. The deterioration of the child's condition was noted by the 3rd day from the onset of the disease, and was associated with the development of pneumonia and severe respiratory failure. The disease progressed with an increase in lung tissue damage and the appearance of multiple organ pathologies (cardiovascular, digestive, urinary, nervous system).

On the example of this clinical case, it was revealed that the new SARS-CoV-2 infection associated with RSV infection in a young child had a severe course accompanied by multiple organ failure, which was aggravated by the patient's comorbidity (congenital

heart disease) and an unfavorable premorbid condition. Despite the extremely difficult course, the case ended happily.

Given the risk of developing mixed infections in newborns, the vigilance of a pediatrician, constant dynamic monitoring and preventive measures aimed at preventing the occurrence of complications in such children are important.

■ **Keywords:** new coronavirus SARS-CoV-2 infection, respiratory syncytial virus, children.

■ **Conflict of interest:** *nothing to disclose.*

ВВЕДЕНИЕ

Эпидемиологическая ситуация в мире, вызванная новым штаммом коронавируса SARS-CoV-2, продолжает оставаться напряженной. При этом возрастают частота встречаемости и тяжесть клинических проявлений этого заболевания среди детского населения [1]. Согласно литературным данным, новорожденные и младенцы (дети до 1 года) более уязвимы для инфекции SARS-CoV-2, с более высокой вероятностью тяжелого течения заболевания по сравнению с детьми старшего возраста [2–4].

Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ) считается ведущей причиной инфекций нижних дыхательных путей у детей до 5 лет, обуславливая ежегодно до 3,4 млн госпитализаций. У детей грудного возраста РСВ-инфекция – одна из наиболее значимых причин смертности, вызываемых вирусами. Наибольший риск развития тяжелой РСВ-инфекции наблюдается у недоношенных детей и у детей с хроническими заболеваниями легких, в том числе с бронхолегочной дисплазией и муковисцидозом, гемодинамически значимыми врожденными пороками сердца, нейромышечными заболеваниями, иммунодефицитами [5].

Особенностью течения инфекционных заболеваний у детей раннего возраста является возможность развития микст-инфекции, включая вирусно-вирусные или вирусно-бактериальные / грибковые ассоциации.

К настоящему времени известно, что коинфицирующие патогены могут взаимодействовать друг с другом прямо, а могут и посредством иммунной системы организма-хозяина. По сравнению с моноинфекцией эти взаимодействия существенно сказываются на течении инфекционного процесса, степени его прогрессирования, возможности контролировать его развитие. Поскольку процесс коинфицирования может влиять как на свойства патогенов, так и на состояние макроорганизма, требуются особые условия мониторинга в сочетании с дифференцированным подходом к таким инфекционным заболеваниям, однако эта сторона вопроса изучена пока недостаточно, а существующее состояние проблемы требует глубокого анализа [6].

Сочетанное действие двух вирусов – SARS-CoV-2 и РСВ – в организме ребенка раннего возраста представляет научный интерес с учетом способности этих вирусов вызывать тяжелые формы бронхоолитов и пневмоний с развитием острой дыхательной недостаточности.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить клинические особенности течения новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, ассоциированной с РСВ-инфекцией, на примере клинического случая у ребенка раннего возраста.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

14.10.21 г. в Оренбургскую областную клиническую инфекционную больницу санитарной авиацией был доставлен из межрайонной больницы пациент Р. в возрасте 21 дня жизни. При поступлении отмечались жалобы на повышение температуры до 38,5°C, одышку, бледность кожных покровов, выраженную вялость и сонливость.

Из анамнеза жизни известно, что ребенок от первой беременности, протекавшей на фоне токсикоза в первом триместре, гестоза, хронической внутриутробной гипоксии плода. На 39 неделе беременности произошли физиологические роды. Масса ребенка при рождении 2690 г, рост 48 см, оценка по шкале Апгар 6/7 баллов. К груди приложен в первые сутки. Выявлен врожденный порок сердца (ВПС) – дефект межжелудочковой перегородки (ДМЖП). Новорожденный выписан из роддома на четвертый день. После выписки состояние было удовлетворительным, находился на грудном вскармливании. В семье был контакт с детьми, больными ОРВИ.

Ребенок заболел остро в возрасте 19 дней с повышения температуры до 38°C. После осмотра участковым педиатром выставлен диагноз: ОРВИ. Было назначено лечение: свечи «Виферон» по 150000 МЕ, отпаивание водой, капли в нос – раствор називина и «Аквамарис», при повышении температуры выше 38,5°C рекомендован прием нурофена в сиропе. К третьему дню болезни состояние ребенка ухудшилось: усилился кашель, развилась одышка, появилась сонливость, младенец в тяжелом состоянии был доставлен в отделение реанимации межрайонной больницы. При госпитализации состояние расценено как тяжелое. Ребенок очень вялый. Отмечались бледность кожных покровов, акроцианоз. Носовое дыхание было затруднено. Регистрировалась одышка смешанного типа с резким втяжением уступчивых мест грудной клетки на вдохе и выдохе в покое. Частота дыхания – 78 в минуту. Дыхание стонущее. При аускультации в легких было ослабленное дыхание с обеих сторон. Сатурация 88% при дыхании атмосферным воздухом. Ребенок был заинтубирован и подключен к аппарату ИВЛ.

Выставлен диагноз: «внебольничная двусторонняя пневмония, тяжелой степени тяжести. Дыхательная недостаточность (ДН) III степени,

Таблица 1 / Table 1

Динамика основных лабораторных показателей, характеризующих состояние ребенка
The dynamics of the main laboratory parameters characterizing the child's condition

Показатели	14.10.21	17.10.21	21.10.21	03.11.21	08.11.21
Общий анализ крови					
Гемоглобин (норма 124–166 гр/л)	103	105	90	127	120
СОЭ (норма 0–10 мм/час)	42	2	2	2	2
Лимфоциты (норма 46–70 %)	47%	40%	24%	44%	42%
Лейкоциты (норма $7,6–12,5 \times 10^9/\text{л}$)	$6,1 \times 10^9$	$22,1 \times 10^9$	30×10^9	$14,9 \times 10^9$	$11,2 \times 10^9$
Биохимический анализ крови					
СРБ (норма до 0,6 мг/л)	51,8	43,8	5	4,7	0,63
АлАТ (норма до 54 Ед/л)	788	744	90	35	25
Мочевина (норма от 2,5 до 7,0 ммоль/л)	16,1	10,3	3,6	3,6	3,4
Прокальцитонин (до 0,5 нг/мл)	2,8	2,8	1,7	0,5	0,09
Д-димер (норма до $345,7 \pm 20,3$ нг/мл)	1150	1150	1100	510	330
Ферритин (норма 25–200 мкг/л)	310	600	750	-	-
Альбумин (норма 33–42 г/л)	-	34	-	35	40

токсикоз III степени. ВПС. ДМЖП. Острая гипоксическая энцефалопатия, тяжелой степени, синдром угнетения ЦНС».

Ввиду тяжести состояния пациент был консультирован с заместителем главного врача по медицинской части, после чего ребенок был доставлен в реанимационное отделение.

При поступлении объективно состояние расценивалось как очень тяжелое за счет респираторного синдрома, неврологической симптоматики, интоксикации. Кожные покровы были бледными, «мраморными», отмечался акроцианоз. При аускультации легких дыхание было жестким, выслушивались сухие и влажные хрипы по всем легочным полям. Тоны сердца – громкие, ритмичные, систолический шум, тахикардия с ЧСС=140 в минуту. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Стул 3 раза в сутки, кал кашицеобразный, без патологических примесей. Мочеиспускание редкое. Сознание soporозное. Большой родничок 2х2 см, выбухал. Менингеальных и очаговых знаков нет.

Проведено обследование: гемограмма – анемия легкой степени тяжести (Hb-103 г/л), СОЭ ускорена до 42 мм/час, лимфоцитоз 47%. ОАМ – эритроциты 1–3 в поле зрения, белок 0,2 ‰, лейкоциты 0 в поле зрения. Копрограмма – без особенностей. Посев кала на условно-патогенные бактерии – отрицательный.

Биохимический анализ крови – С-реактивный белок 43,8 мг/л (N<0,05 г/л), АлАТ 774 М/Е (N до 40 Ед/л), прокальцитонин 2,8 нг/мл (норма до 0,5 нг/мл), Д-димер 1150 нг/мл (норма до 345,7 нг/мл), ферритин 310 нг/л (норма 200 нг/л).

Рентгенография органов грудной клетки: признаки двусторонней полисегментарной пневмонии.

КТ органов грудной клетки: признаки двустороннего поражения легочной ткани интерстициального характера, поражение паренхимы до 40% (высокая вероятность вирусной пневмонии) КТ2.

КТ головного мозга: признаки отека головного мозга.

ЭХО-КС от 15.10. ВПС – вторичный дефект межпредсердной перегородки (ДМПП) 6–7 мм со сбросом крови. Мышечный ДМЖП 3 мм со сбросом крови. Давление в правом желудочке 32 мм рт. ст. Полость левого желудочка не увеличена. Сократительная способность миокарда сохранена.

18.10.21 г. методом ПЦР выделена РНК РСВ из носоглотки, 22.10.21 г. – в мазке из зева и носа выявлена РНК SARS CoV-2.

20.10.21 г. микробиологическое исследование мокроты: выделена *Pseudomonas aeruginosa* 104 КОЕ/г.

Клинический диагноз: новая коронавирусная инфекция, ПЦР подтвержденная. Внебольничная двусторонняя полисегментарная пневмония, тяжелой степени, ПЦР подтвержденная. РСВ-инфекция. ДН III степени, токсикоз III степени. Острая гипоксическая энцефалопатия, тяжелой степени, синдром угнетения ЦНС. Отек головного мозга. ВПС. ДМЖП. Вторичный ДМПП. Анемия легкой степени тяжести, гипохромная, смешанного генеза.

В течение первой недели госпитализации ребенок получал лечение: виферон, иммуноглобулин для внутривенного введения, меропенем, ванкомицин, инфузионную терапию, гепарин, преднизолон.

На фоне проводимой терапии состояние пациента оставалось стабильно тяжелым. К пятому дню госпитализации сохранялась температура 37,5–38°C, дыхание аппаратное, сатурация на этом фоне 94%, тоны сердца стали приглушены, ритмичные, выслушивается шум во всех аускультативных точках. Стул 1 раз в 2 дня, диурез снижен. В сознании, на осмотр реагирует вялыми движениями конечностей, непродолжительным плачем.

В общем анализе крови отмечено нарастание лейкоцитоза с $6 \times 10^9/\text{л}$ до $22,1–30 \times 10^9/\text{л}$ к шестому дню госпитализации.

Таблица 2 / Table 2

Лабораторные показатели критической формы SARS-CoV-2 инфекции [7]

Laboratory findings for very severe cases of SARS-CoV-2 infection

Показатель	Критическая форма SARS-CoV-2 инфекции	Фактически у данного ребенка
СОЭ	нарастание	42 мм/час
Лейкоциты	лейкоцитоз	$30 \times 10^9/\text{л}$
С-реактивный белок	более 100 мг/л	51,8 мг/л
Прокальцитонин	более 2 нг/мл	2,8 нг/мл
Ферритин	более 500 нг/л	750 нг/мл
АлАТ	более 108 Ед/л	788 Ед/л
Мочевина	более 7 ммоль/л	16,1 ммоль/л
Креатинин	более 60 ммоль/л	100 ммоль/л
Д-димер	более 700 нг/мл	1150 нг/мл

На рентгенограмме органов грудной клетки отрицательная динамика к пятому дню госпитализации – увеличение площади инфильтративных изменений в средних и нижних отделах правого легкого.

Учитывая динамику изменений на рентгенографии органов грудной клетки, нарастание лейкоцитоза, сохраняющийся субфебрилитет и данные о чувствительности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам, была проведена смена антибиотика на урофосфабол, максиктам. Ребенок неоднократно был консультирован со специалистами Федерального центра с помощью телемедицинских коммуникаций для согласования лечения.

После коррекции лечения состояние ребенка было стабильным, без ухудшения. В общем анализе крови регистрировалось постепенное нарастание гемоглобина до 120 г/л, нормализация СОЭ (2 мм в час), лейкоциты снизились ($11,2 \times 10^9/\text{л}$). В биохимическом анализе крови отмечалась положительная динамика в виде снижения уровня С-реактивного белка с 51 до 0,63 мг/л, АлАТ с 788 Ед/л до 25 Ед/л, мочевины с 16,1 до 3,4 ммоль/л, прокальцитонина с 2,8 до 0,09 нг/мл, Д-димера с 1150 до 330 нг/мл (таблица 1).

На 24-й день госпитализации после получения двух отрицательных результатов ПЦР-мазков из носо- и ротоглотки на COVID-19 ребенок переведен в соматическое отделение Областной детской клинической больницы (ОДКБ) для продолжения лечения. В динамике наблюдения этого ребенка в ОДКБ его состояние постепенно улучшилось: произведен перевод на самостоятельное дыхание, произошло улучшение функционального состояния дыхательной, сердечно-сосудистой, мочевыделительной, нервной систем. Ребенок был выписан для дальнейшего наблюдения и реабилитации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное клиническое наблюдение показало, что ребенок был из группы высокого риска по тяжелому течению как РСВ, так и SARS-CoV-2 инфекции – неблагоприятное течение беременности (токсикоз, гестоз, хроническая внутриутробная гипоксия плода), незрелость к сроку, ребенок родился

маловесным, наличие врожденного порока сердца – ДМЖП, ранний возраст – 21 день. Заражение вирусом происходило не одномоментно, а последовательно: сначала – РСВ, затем – SARS-CoV-2 с последующим присоединением синегнойной палочки. Начало заболевания было типичным для РСВ-инфекции с появления субфебрильной температуры и умеренных катаральных явлений, с ухудшением состояния к третьему дню от начала болезни и вовлечением в патологический процесс нижних дыхательных путей, клинически проявляющегося нарастанием кашля и явлений дыхательной недостаточности. Состояние ребенка – тяжелая дыхательная недостаточность, падение сатурации до 84%, угнетение рефлексов, а также присоединение поражения всех органов и систем – сердечно-сосудистой (появление приглушенности тонов, усиление аускультативных шумов); мочевыделительной (снижение диуреза, гематурия и протеинурия, повышение мочевины); пищеварительной (замедление перистальтики кишечника и нарушение функции печени – повышение активности АлАТ); нервной системы (нарастание вялости и сонливости, на КТ – признаки отека головного мозга) – свидетельствует о развитии у ребенка очень тяжелой формы заболевания с развитием полиорганной недостаточности. Эти данные подтверждаются результатами лабораторных исследований – нарастание лейкоцитоза и СОЭ, повышение С-реактивного белка, Д-димера, ферритина, прокальцитонина (таблица 2).

Заболевание протекало тяжело и длительно с типичными клиническими проявлениями тяжелой РСВ и SARS-CoV-2 инфекции, что подтверждает потенцирование действия этих вирусов. Однако, несмотря на тяжесть клинических проявлений и длительность проведения ИВЛ, у ребенка наступила положительная динамика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примере данного клинического случая выявлено, что новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2, ассоциированная с РСВ-инфекцией, протекает тяжело с развитием полиорганного поражения, что усугубилось коморбидностью пациента (ВПС)

и преморбидным фоном (факторы риска, связанные с отягощенным течением беременности, рождение ребенка с низким весом).

У детей раннего возраста нередко развивается микст-инфекция (вирусно-вирусная, вирусно-бактериальная / грибковая), поэтому важна настороженность врача-педиатра, постоянное динамическое наблюдение и профилактические мероприятия, направленные на предотвращение возникновения осложнений.

Особенности взаимодействий SARS-CoV-2 с другими вирусами требует дальнейшего углубленного изучения.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Belan YuB, Gashina EA, Lobova EF, Shefer EP. A clinical case of the development of multisystem inflammatory syndrome in a child with a new coronavirus infection. *Children's Infections*. 2021;20(2):60-63. (In Russ.). [Белан Ю.Б., Гашина Е.А., Лобова Е.Ф., Шефер Е.П. Клинический случай развития мультисистемного воспалительного синдрома у ребенка с новой коронавирусной инфекцией. *Детские инфекции*. 2021;20(2):60-63]. doi: 10.22627/2072-8107-2021-20-2-60-63
2. Shaiba LA, Altirkawi Kh, Hadid A. COVID-19 Disease in Infants Less Than 90 Days: Case Series. *Front Pediatr*. 2021;9:15-23.
3. Trevisanuto D, Kavallin F, Kavichiolo M. Coronavirus infection in newborns: a systematic review. *Neonatology*: news, opinions, training. 2020;8(4):77-83. (In Russ.). [Тревисануто Д., Каваллин Ф., Кавичиоло М. Коронавирусная инфекция у новорожденных: систематический обзор. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2020;8(4):77-83]. doi: 10.1136/archdischild-2020-319837
4. WHO. Coronavirus disease (COVID-2019) situation reports. Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>
5. Ovsyannikov DYU, Degtyarev DN, Krsheminskaya IV. Respiratory Syncytial Virus Lower Respiratory Tract Infections in Premature Infants and Infants with Bronchopulmonary Dysplasia. *Children's infections*. 2015;3:5-10. (In Russ.). [Овсянников Д.Ю., Дегтярев Д.Н., Кршеминская И.В. Инфекции нижних дыхательных путей респираторно-синцитиальной вирусной этиологии у недоношенных детей и детей с бронхолегочной дисплазией. *Детские инфекции*. 2015;3:5-10]. doi: 10.22627/2072-8107-2015-14-3-39-44
6. Balmasova IP, Malova ES, Sepiashvili RI. Viral and bacterial coinfection as a global problem of modern medicine. *RUDN Journal of Medicine*. 2018;22(1):29-42. (In Russ.). [Балмасова И.П., Малова Е.С., Сепиашвили Р.И. Вирусно-бактериальные коинфекции как глобальная проблема современной медицины. *Вестник РУДН*. 2018;22(1):29-42]. doi: 10.22363/2313-0245-2018-22-1-29-42
7. Features of clinical manifestations and treatment of the disease caused by a new coronavirus infection (COVID-19) in children. Guidelines, version 2 dated July 3, 2020. (In Russ.). [Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) у детей. Методические рекомендации, версия 2 от 3.07.2020 г.].

■ Автор для переписки

Ковалева Оксана Васильевна
Адрес: Оренбургский медицинский университет, ул. Советская, 6,
г. Оренбург, Россия, 460014.

■ Corresponding Author

Oksana V. Kovaleva
Address: Orenburg State Medical University, 6 Sovetskaya st.,
Orenburg, Russia, 460014.

E-mail: oksana_kovaleva_73@list.ru

ОСОБЕННОСТИ УСЛОВИЙ ТРУДА И ПСИХОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА МЕДИЦИНСКИХ СОТРУДНИКОВ В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19

Н.И. Усольцева¹, Г.Г. Марьин², Е.А. Медведева^{1, 3}, Г.А. Горбешко⁴

¹ФГБУ «Российская академия наук» (Москва, Россия)

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (Москва, Россия)

³ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России (Москва, Россия)

⁴ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр медицинской реабилитации и курортологии Федерального медико-биологического агентства» (Солнечногорск, Россия)

Для цитирования: Усольцева Н.И., Марьин Г.Г., Медведева Е.А., Горбешко Г.А. Особенности условий труда и психологического статуса медицинских сотрудников в период пандемии COVID-19. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):9-13. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.9-13

■ Сведения об авторах

Усольцева Н.И. – канд. мед. наук, врач-невролог, эксперт РАН. ORCID: 0000-0002-7269-6444 E-mail: nusolceva.ran@yandex.ru

Марьин Г.Г. – д-р мед. наук, профессор кафедры эпидемиологии. ORCID: 0000-0003-2179-8421 E-mail: ger-marin@yandex.ru

Медведева Е.А. – канд. мед. наук, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии.

ORCID: 0000-0001-7786-3777 E-mail: evgeniya0103med@yandex.ru

Горбешко Г.А. – врач функциональной диагностики, врач-нейрофизиолог. ORCID: 0000-0001-6593-5753 E-mail: neurophiz@yandex.ru

Рукопись получена: 30.09.2022

Рецензия получена: 21.10.2022

Решение о публикации: 01.12.2022

■ Аннотация

Изучение вопросов адекватной поддержки медицинских работников в условиях пандемии является важным аспектом для понимания недостатков и принятия верных тактических решений в случае повторения ситуации. В настоящей статье проведен обзор данных по состоянию медицинских работников различных больниц и клиник по всему миру.

Среди признаков, наиболее часто выявляемых у медработников, работающих в «красной зоне», были отмечены психологический стресс, повышенная рабочая нагрузка, социальная стигматизация, отсутствие мотивации, нехватка качественных средств индивидуальной защиты, отсутствие координации и надлежащего управления во время работы.

Медицинские работники ежедневно подвергались риску заражения коронавирусом, и это создало очевидные риски для их физического здоровья. Кризис общественного здравоохранения сказывался на их психическом здоровье, способствуя тревоге, стрессу, депрессии, одиночеству и другим проблемам. Многие исследователи в ходе проводимых интервью приходили к выводу, что медицинские работники нуждаются в поддержке как физического, так и психического здоровья.

■ **Ключевые слова:** пандемия, коронавирус, риски, физическое здоровье, психическое здоровье, тревога, стресс, депрессия.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

WORKING CONDITIONS AND PSYCHOLOGICAL STATUS OF MEDICAL STAFF DURING THE COVID-19 PANDEMIC

Natalya I. Usoltseva¹, German G. Maryin², Evgeniya A. Medvedeva^{1, 3}, Gerasim A. Gorbeshko⁴

¹Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

²Russian Medical Academy for Continuous Professional Education (Moscow, Russia)

³A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Moscow, Russia)

⁴Federal Scientific and Clinical Center for Medical Rehabilitation and Balneology of the Federal Medical and Biological Agency (Solnechnogorsk, Russia)

Citation: Usoltseva NI, Maryin GG, Medvedeva EA, Gorbeshko GA. Working conditions and psychological status of medical staff during the COVID-19 pandemic. *Aspirantskiy vestnik Povolzhya*. 2022;22(4):9-13. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.9-13

■ Information about authors

Natalya I. Usoltseva – PhD, neurologist, expert of the Russian Academy of Sciences. ORCID: 0000-0002-7269-6444

E-mail: nusolceva.ran@yandex.ru

German G. Maryin – PhD, Professor, Department of Epidemiology. ORCID: 0000-0003-2179-8421 E-mail: ger-marin@yandex.ru

Evgeniya A. Medvedeva – PhD, assistant of the Department of Propaedeutics of internal diseases and gastroenterology.

ORCID: 0000-0001-7786-3777 E-mail: evgeniya0103med@yandex.ru

Gerasim A. Gorbeshko – functional diagnostics physician, neurophysiologist. ORCID: 0000-0001-6593-5753 E-mail: neurophiz@yandex.ru

Received: 30.09.2022

Revision Received: 21.10.2022

Accepted: 01.12.2022

■ Abstract

We consider the aspects of the adequate support for medical workers during the pandemic as an important topic for understanding the gaps and choice of the correct tactical measures in case the situation repeats. This article presents a review of the data on the condition of medical workers in various hospitals and clinics around the world.

The staff working in the "red zones" most frequently suffered from the following conditions: psychological stress, increased workload, social isolation / stigma, lack of motivation, lack of quality personal protective equipment, lack of coordination and proper management during the work.

Each day, the medical workers were exposed to the COVID-19 infection, and this situation had created clear risks to their physical health. The public healthcare system crisis impacted their mental health, contributing to anxiety, stress, depression, loneliness and other problems. Many authors had concluded that health professionals required a support for both physical and mental health.

- **Keywords:** pandemic, COVID-19, risks, physical health, mental health, anxiety, stress, depression.
- **Conflict of interest:** *nothing to disclose.*

АКТУАЛЬНОСТЬ

На сегодняшний день известно, что COVID-19 – сложное респираторное вирусное заболевание, характеризующееся бессимптомной передачей вируса от человека к человеку, высокой контагиозностью, способностью к мутации и поражению всех органов. Болезнь, вызванная вирусом COVID-19, была признана Всемирной организацией здравоохранения чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения и 11 марта 2020 года была объявлена пандемией. Вспышка COVID-19 затронула большинство стран и систем здравоохранения во всем мире. Социальное дистанцирование на какое-то время стало наиболее эффективным средством защиты от вируса [1]. Создание вакцин привело к снижению числа тяжелого течения заболевания, но не обезопасило от распространения инфекции. Несмотря на знание и опыт коллег, работающих в инфекционной сфере, медицинское сообщество не было готово к такому вызову. На начальном этапе пандемии медицинские работники сталкивались с условиями, которые можно было сравнить с зоной военных действий.

Мир столкнулся с кризисом в области здравоохранения из-за разнонаправленного удара – нехватки медицинского персонала, большого количества заболевших COVID-19, неясности особенностей течения инфекции и отсутствия эффективного лечения [2].

Первая полномасштабная вспышка в Европе произошла 22 февраля 2020 года в Италии. Болезнь распространилась по всему миру с почти 37 млн случаев по состоянию на 13 октября 2020 года. На тот момент общее число случаев заболевания в Италии превышало 233 тыс. человек, а число людей, погибших от COVID-19 (33 530), перевешивало число смертей, зарегистрированных в Китае (3 259). Около 33 040 медицинских работников были инфицированы и 113 умерли во время эпидемии в Италии из-за тесного контакта с инфицированными пациентами [3].

Исследования, проведенные в Китае, показали, что медицинские работники, работающие с высокой нагрузкой и пациентами с опасными для жизни заболеваниями, испытывали сильное психологическое давление и психопатологические состояния. Дополнительными факторами, способствующими усилению немедленного и долгосрочного психологического стресса, становились стремительное увеличение объемов пациентов (что влекло за собой нехватку специалистов инфекционных отделений и привлечению медицинских работников, не имеющих специализации по инфекционным заболеваниям), отсутствие эффективных схем лечения и эффективной вакцины [4].

Исследование, проведенное в Малайзии, свидетельствовало, что нехватка основного («прифронтного») персонала приводила к тому, что «нефронтной» персонал был развернут на прифронтных позициях, что повышало уровень тревоги, стресса и депрессии у последних ввиду отсутствия опыта, навыков и соответствующей подготовки для борьбы с пандемией [5]. Увеличивающиеся объемы поступающих пациентов приводили к изменению графиков работы персонала с повышением количества отработанных часов, что безусловно сказывалось как на физическом, так и психологическом состоянии персонала. Высокую нагрузку испытывали также медицинские работники, не задействованные в лечении COVID-19. Так, исследование, проведенное в Шанхае (КНР), показало, что после того как значительное число медицинских работников было направлено в Ухань для борьбы с начальной вспышкой COVID-19, медицинские работники, не находящиеся на переднем крае, испытывали большую усталость из-за высокой требуемой рабочей нагрузки по сравнению с ежедневными медицинскими услугами, которые предоставлялись ранее в обычном режиме [6].

Согласно исследованию, проведенному в Бангладеш, по состоянию на 15 октября 2020 года в стране было зарегистрировано около 4797 случаев заболевания COVID-19 среди врачей и медсестер с более чем 100 летальными исходами. Помимо физиологических угроз, сама чрезвычайная ситуация влияла на психику медицинских работников, включая профессиональный стресс, страх перед инфекцией и чувство беспомощности. Сверхурочная работа многих медицинских работников (17 часов и более), включая длительные смены телеконсультаций, вызывала физическое истощение и декомпенсацию эмоциональной сферы. Одновременно медицинские работники сталкивались с острой нехваткой масок, перчаток для рук и средств индивидуальной защиты (СИЗ), а имеющиеся на тот период СИЗ местного производства, маски и другие комплекты были низкого качества и не обеспечивали должной защиты медицинского персонала от заражения, что и приводило к тревожному уровню среди медицинского персонала [7].

Согласно опросу, медицинские работники страдали от бессонницы и расстройства сна, одиночества и депрессии в результате рабочей нагрузки и связанного с ней стресса. Они испытывали приступы тревоги, а также разочарование из-за недостатка знаний, страха заражения – как своего собственного, так и членов своих семей. Многие медицинские

работники испытывали психологическое напряжение из-за отсутствия возможности полноценного контакта со своими близкими, так как им приходилось жить вдалеке от них [8].

Если рассмотреть проблемы, с которыми сталкиваются медицинские работники во время пандемии COVID-19 с точки зрения теории стресса, то можно применить термин «общественный стресс», поскольку люди сталкиваются с рядом физических и психических проблем как внутри, так и извне, что влияет на их собственное состояние. Психологи Х.Е. Урсин и Х.Р. Эриксен (2004) дают дополнительное объяснение того, как люди переживают стресс во время кризиса. Термин «стресс» используется для обозначения четырех различных точек зрения, а именно: «стрессовые стимулы», «переживание стресса», «неспецифическая общая реакция на стресс» и «переживание реакции на стресс». Согласно теории когнитивной активации стресса (CATS), люди приобретают знания, справляясь с трудностями, и нормальный, хорошо сбалансированный стресс в таких ситуациях должен быть обычным явлением. Реакция на стресс важна, поскольку это дает людям мотивацию, которая позволяет преодолевать трудности. Однако когда возникает несоответствие между ожидаемыми и фактическими обстоятельствами, механизм реагирования на стресс искажается. Можно сказать, что постоянная рабочая нагрузка и психическое напряжение медицинских работников во время пандемии порождают приобретенное ощущение, называемое безнадёжностью [9].

Наиболее показательной является серия углубленных телефонных интервью, проведенная среди медицинских работников в Бангладеш. В этом исследовании приняли участие 15 респондентов – врачи и медсестры, которые оказывали помощь в различных больницах и клиниках Бангладеш с мая по август 2020 года. В ходе интервью были рассмотрены следующие вопросы: рабочая нагрузка, средства индивидуальной защиты, социальное принятие, психическое здоровье, мотивация, стратегии преодоления, координация и руководство респондентами во время пандемии COVID-19 [10].

Все участники отметили, что сектор здравоохранения сталкивался с нехваткой медицинских работников. Как оказалось, многие дипломированные врачи не имели достаточной врачебной практики, что приводило к увеличению рабочей нагрузки на опытных медиков как в государственных, так и в частных учреждениях. В частных учреждениях врачам обычно предоставлялся однодневный перерыв каждую неделю. Врачи работали в течение длительных смен в рабочие дни и в праздничные дни с помощью телекоммуникаций.

Помимо чрезмерной физической нагрузки ситуация осложнялась выраженным психическим напряжением. Недостаток среднего медицинского персонала приводил к увеличению продолжительности

работы до 16-17 часов в смену в день. Кроме того, часто страх перед инфекцией препятствовал желанию медицинских работников приходить на свое рабочее место.

Поскольку пациенты плохо ориентировались в протоколах безопасности, COVID-положительные пациенты часто приходили в медицинские учреждения для получения стандартной медицинской консультации, тем самым подвергали риску и COVID-отрицательных пациентов, и медицинских работников [6].

Участники неоднократно указывали на то, что средств индивидуальной защиты, поставляемых в больницы, либо не хватало, либо они были крайне низкого качества. Это вынуждало участников исследования приобретать собственные средства индивидуальной защиты [5].

Еще одной проблемой для медицинских работников во время пандемии COVID-19 была социальная стигматизация. Соседи и знакомые, опасаясь заражения, избегали общения с медицинскими работниками. В некоторых случаях арендодатели повышали ежемесячную арендную плату за жилье и даже выселяли медиков из своей собственности, если у них был положительный результат теста на COVID.

По мере нарастания эпидемии коронавирусной инфекции самыми актуальными становились проблемы с психическим здоровьем. Даже медики, имеющие опыт работы в чрезвычайных ситуациях, сталкивались с проблемами психологического уровня. Наблюдение за смертью коллег вызвало у медицинских работников чувство беспомощности; многие из них стали страдать бессонницей [11].

Участники опроса отмечали несоответствие трудозатрат и стимулирующих выплат. Многие участники сообщили, что дополнительное стимулирование от правительства так и не поступило [11].

Также проблемой стали постоянно меняющиеся руководящие принципы ВОЗ и правительства, что формировало неуверенность медицинских работников в направлении лечения, что создавало для них дополнительную психическую нагрузку [12].

Все участники опроса отметили, что важным механизмом преодоления трудностей была психологическая поддержка со стороны членов семьи и коллег.

Ситуация с пандемией COVID-19 показала недостаточный уровень управления органами здравоохранения во многих странах. Это отражено в недавно проведенных исследованиях [13], подтверждающих необходимость в укреплении управления здравоохранением путем правильного распределения медицинских учреждений между городскими и сельскими районами, государственными и частными учреждениями, а также повышения роли средств массовой информации, увеличения набора медицинских работников и сосредоточения внимания на обеспечении необходимым медицинским оборудованием.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований показывают, что у медицинских работников, работающих на «передовой», отмечается выраженная физическая и психологическая нагрузка. Чрезмерная рабочая нагрузка становится причиной психического расстройства, бессонницы, физической слабости, а также страха перед инфекцией [14]. Недостаточное количество СИЗ провоцирует распространение вирусов среди медицинских работников, а ношение СИЗ в течение длительного времени приводит к обезвоживанию, истощению и дополнительному снижению иммунитета [15].

Важным аспектом оказался несовершенный стиль руководства в период создавшейся чрезвычайной ситуации. Сбои в координации и маршрутизации пациентов приводили к хаотичной обстановке. Врачи не были уверены в протоколах, необходимых для обеспечения безопасности, что еще больше увеличивало риск заражения. Нехватка оборудования способствовала угрозе безопасности. Постоянный страх заразиться и заразить членов своей семьи подвергал медиков постоянному психологическому стрессу. Большинству участников исследований требовались адекватные средства защиты и надлежащий отдых [16].

Все это доказывает необходимость создания органами здравоохранения специализированного комплекса мероприятий профилактики неблагоприятных последствий для медицинских работников. Отсутствие координации и квалифицированной рабочей силы по-прежнему остается ключевой проблемой, влияющей на качество медицинских услуг [5].

Описанная ситуация остается идентичной во всех странах. Так, в Российской Федерации 40% работающих в «красной зоне» медиков также страдают от психологических проблем, таких как психастения, эмоциональное выгорание, эмоциональная усталость, апатия [11]. Из числа работающих в больницах для пациентов с COVID-19 примерно 10% медиков страдают депрессией, у еще 10% наблюдаются нарушения ночного сна [7]. Около трети специалистов, работающих в контакте с больными, высказывают желание уволиться из-за хронической усталости, а почти у четверти наблюдаются психосоматические расстройства [10].

ВЫВОДЫ

В настоящем исследовании проведен обзор результатов нескольких зарубежных исследований и изучены проблемы, с которыми сталкиваются медицинские работники во время пандемии COVID-19 по всему миру. Большинство исследований свидетельствует о нехватке медицинского персонала, сверхурочной работе, высокой физической и психологической нагрузке у работников «красных зон». Одними из важных позиций стали нехватка соответствующего оборудования

и снабжения кислородом, нехватка средств индивидуальной защиты, страх заражения, социальная изоляция и несовершенное управление. Несмотря на то что национальная политика многих стран в области здравоохранения рекомендовала усилить квалифицированную рабочую силу и материально-техническую поддержку, фактический сценарий этому зачастую не соответствовал.

Крайне важно увеличивать штат сотрудников в так называемых «красных зонах», чтобы обеспечить правильное распределение трудовых затрат медицинских работников и периодов отдыха. В случае болезни одного из сотрудников необходимо обеспечить подмену. Необходима определенная избыточность медицинского персонала в стационарах «красной зоны» с целью улучшения качества оказания помощи и уменьшения нагрузки на персонал. Также необходимо рассмотреть вопрос об увеличении длительности отпуска.

Важным аспектом, требующим особого внимания, является психологический аспект, затрагивающий как конкретно каждого медицинского работника, так и обстановку в коллективе медработников «красных зон» в целом. Здесь стоит отметить, что психологическое консультирование не соответствует российским традициям, и «горячие линии» для медиков в нашей стране популярностью не пользовались: эмоционально уставшему человеку трудно потратить силы еще на беседы с психологами. Но в любом случае медицинские работники нуждаются в поддержке как физического, так и психического здоровья.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Afontsev SA. *The scale of losses from the COVID-19 pandemic is enormous*. In: West – East – Russia 2020. М., 2021:9-12. (In Russ.). [Афонцев С.А. *Масштаб потерь от ковид-эпидемии колоссален*. В кн.: Запад – Восток – Россия 2020. М., 2021:9-12].
2. Turale S, Nantsupawat A. Clinician mental health, nursing shortages and the COVID-19 pandemic: Crises within crises. *Int Nurs Rev*. 2021;68(1):12-14. doi: 10.1111/inr.12674
3. Lunkin RN. *Religion and politics in Russia: Covid solidarity, Covid dissidence, church and protests*. In: Religion in Modern Russia: Pandemic Events and Discourses. Ed. MM. Mchedlova. М., 2021:75-90. (In Russ.). [Лункин Р.Н. *Религия и политика в России: ковид-солидарность, ковид-диссидентство, церковь и протесты*. В кн.: Религия в современной России: события и дискурсы пандемии. Под ред. М.М. Мchedловой. М., 2021:75-90].
4. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020;382(13):1199-1207.
5. Worldometers. COVID-19 coronavirus pandemic 2020. Available from: <https://www.worldometers.info/coronavirus>
6. Chen J, Liu X, Wang D, et al. Risk factors for depression and anxiety in healthcare workers deployed during the COVID-19 outbreak in China. *Soc Psychiatry. Psychiatr Epidemiol*. 2020:1-9.
7. Muller AE, Hafstad EV, Himmels JPW, et al. The mental health impact of the COVID-19 pandemic on healthcare

- workers, and interventions to help them: A rapid systematic review. *Psychiatry Res.* 2020;293:113441.
8. Shaukat N, Ali DM, Razzak J. Physical and mental health impacts of COVID-19 on healthcare workers: a scoping review. *Int J Emerg Med.* 2020;13(1):40.
 9. Andreassen CS, Ursin H, Eriksen HR. The relationship between strong motivation to work, «workaholism», and health. *Psychology and Health.* 2021;22:615-629.
 10. Kola L, Kohrt BA, Hanlon C, et al. COVID-19 mental health impact and responses in low-income and middle-income countries: reimagining global mental health. *Lancet Psychiat.* 2021;8(6):535-550. doi: [10.1016/S2215-0366\(21\)00025-0](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(21)00025-0)
 11. Kazi Anis Ahmed. Bangladesh sees 100th death of doctors from Covid-19. *Dhaka Tribune.* 2020;October14th.
 12. Mohd Fauzi MF, Mohd Yusoff H, Muhamad Robat R, et al. Doctors' Mental Health in the Midst of COVID-19 Pandemic: The Roles of Work Demands and Recovery Experiences. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(19). Epub 2020/10/15.
 13. Sun N, Wei L, Shi S, et al. A qualitative study on the psychological experience of caregivers of COVID-19 patients. *Am J Infect Control.* 2020;48(6):592-8.
 14. Shariati B, Eftekhari Ardebili M, Shalbafan M. Working in the emergency and inpatient COVID-19 special wards: A different experience for Iranian psychiatric trainees amid the outbreak. *Asian J Psychiatr.* 2020;51:102157.
 15. Pouralizadeh M, Bostani Z, Maroufizadeh S, et al. Anxiety and depression and the related factors in nurses of Guilan University of Medical Sciences hospitals during COVID-19: A web-based cross-sectional study. *Int J Afr Nurs Sci.* 2020;13:100233.
 16. Vindegaard N, Benros ME. COVID-19 pandemic and mental health consequences: Systematic review of the current evidence. *Brain Behav and Immun.* 2020;89:531-42.

■ Автор для переписки

Медведева Евгения Александровна
Адрес: ул. Солянка, 14, стр. 3, к. 212,
г. Москва, Россия, 125284.

■ Corresponding Author

Evgeniya A. Medvedeva
Address: room 212, bldg 3, 14 Solyanka st.,
Moscow, Russia, 125284.

E-mail: evgeniya0103med@yandex.ru

3.4.3. ОРГАНИЗАЦИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ДЕЛА / ORGANIZATION OF THE PHARMACEUTICAL BUSINESS

УДК 614.272:614.273:339.13:339.14:339.18

DOI: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.14-22

ОСОБЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИОННОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ АНТИГИПЕРТЕНЗИВНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ОТДЕЛЬНЫХ СУБЪЕКТАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

П.Р. Блинкова, И.К. Петрухина, П.А. Лебедев, Т.К. Рязанова, Е.П. Гладунова

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

Для цитирования: Блинкова П.Р., Петрухина И.К., Лебедев П.А., Рязанова Т.К., Гладунова Е.П. Особенности популяционного потребления антигипертензивных лекарственных препаратов в отдельных субъектах Российской Федерации. Аспирантский вестник Поволжья. 2022;22(4):14-22. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.14-22

■ Сведения об авторах

Блинкова П.Р. – аспирант кафедры управления и экономики фармации. ORCID: 0000-0002-8604-0729 E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

Петрухина И.К. – д-р фарм. наук, доцент, заместитель директора Института фармации, заведующая кафедрой управления и экономики фармации. ORCID: 00000001-6207-5575 E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Лебедев П.А. – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапии ИПО. ORCID: 0000-0003-3501-2354 E-mail: p.a.lebedev@samsmu.ru

Рязанова Т.К. – канд. фарм. наук, доцент, директор НОЦ «Фармация», доцент кафедры управления и экономики фармации. ORCID: 0000-0002-4581-8610 E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

Гладунова Е.П. – д-р фарм. наук, доцент, профессор кафедры управления и экономики фармации. ORCID: 0000-0001-5198-0393 E-mail: e.p.gladunova@samsmu.ru

Рукопись получена: 20.10.2022

Рецензия получена: 02.11.2022

Решение о публикации: 17.11.2022

■ Аннотация

Цель – изучение особенностей популяционного потребления антигипертензивных лекарственных препаратов в отдельных субъектах Российской Федерации (на примере Самарской области, Нижегородской области и Республики Татарстан).

Материал и методы. При проведении исследования использованы методы структурного, сравнительного, логического, прогнозного, ретроспективного, графического, маркетингового анализов. Обработка результатов производилась с помощью метода нормализации и методов математической статистики. Объектом исследования являлась номенклатура АГ ЛП, реализованных в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской и Нижегородской областей, а также в Республике Татарстан.

Результаты. Основная доля реализации приходится на монопрепараты (90,22%, 90,85% и 93,72%). В 2021 году лидерами потребления являлись ингибиторы АПФ (28,41%, 26,61% и 32,7%) и β -адреноблокаторы (25,87%, 29,02% и 21,15%), суммарно на доли ЛП двух данных подгрупп приходится более половины всех реализованных препаратов рассматриваемой группы (в упаковках). В подгруппе фиксированных комбинаций наиболее востребованы блокаторы рецепторов ангиотензина II + диуретик, на долю которых приходится 35,38%, 29,73% и 22,13% продаж ЛП данной подгруппы в Самарской, Нижегородской областях и Республике Татарстан соответственно. В подгруппе комбинированных АГ ЛП многокомпонентные фиксированные комбинации находятся в числе лидирующих (10,22%, 8,20%, 12,10%), однако в общем объеме потребления АГ ЛП на их долю приходится не более 1%.

Выводы. Изучены особенности популяционного потребления лекарственных препаратов, назначаемых при артериальной гипертензии, в Самарской и Нижегородской областях и Республике Татарстан в 2021 году. Выявлены наиболее потребляемые подгруппы антигипертензивных лекарственных препаратов, лидеры внутри подгрупп. Установлено наличие зависимости между объемами реализации лекарственных препаратов в натуральном выражении (в упаковках), назначаемых при артериальной гипертензии, в Самарской области за период 2017–2021 гг., и численностью населения региона.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, антигипертензивные лекарственные препараты, препараты для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Конфликт интересов: не заявлен.

■ Список сокращений

АГ – артериальная гипертензия; ЛП – лекарственные препараты; АД – артериальное давление;

ССЗ – сердечно-сосудистое заболевание; ИБС – ишемическая болезнь сердца; БСК – болезнь системы кровообращения;

АГ ЛП – антигипертензивные лекарственные препараты; МНН – международные непатентованные наименования.

A STRUCTURE OF THE ANTIHYPERTENSIVE DRUGS CONSUMPTION IN THE POPULATION OF SEVERAL REGIONS OF THE RUSSIAN FEDERATION

Polina R. Blinkova, Irina K. Petrukhina, Petr A. Lebedev, Tatyana K. Ryazanova, Elena P. Gladunova

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Citation: Blinkova PR, Petrukhina IK, Lebedev PA, Ryazanova TK, Gladunova EP. A structure of the antihypertensive drugs consumption in the population of several regions of the Russian Federation. *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya*. 2022;22(4):14-22. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.14-22

Information about authors

Polina R. Blinkova – a postgraduate student of the Department of Management and economics of pharmacy. ORCID: 0000-0002-8604-0729 E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

Irina K. Petrukhina – PhD, Associate professor, Dean of the Faculty of Pharmacy, Head of the Department of Management and economics of pharmacy. ORCID: 00000001-6207-5575 E-mail: i.k.petrukhina@samsmu.ru

Petr A. Lebedev – PhD, Professor, Head of the Department of Therapy, Institute of Postgraduate Education. ORCID: 0000-0003-3501-2354 E-mail: p.a.lebedev@samsmu.ru

Tatyana K. Ryazanova – PhD, Director of the REC "Pharmacy", Associate professor of the Department of Management and economics of pharmacy. ORCID: 0000-0002-4581-8610 E-mail: t.k.ryazanova@samsmu.ru

Elena P. Gladunova – PhD, Professor of the Department of Management and economics of pharmacy. ORCID: 0000-0001-5198-0393 E-mail: e.p.gladunova@samsmu.ru

Received: 20.10.2022

Revision Received: 02.11.2022

Accepted: 17.11.2022

Abstract

Aim – to study the characteristics of the consumption of antihypertensive (AG) drugs in the population of several regions of the Russian Federation – the Samara region, the Nizhny Novgorod region and the Republic of Tatarstan.

Material and methods. The range of AG drugs sold in the retail pharmaceutical market of the Samara and Nizhny Novgorod regions and the Republic of Tatarstan was selected for the study. To manage the obtained data, we used several methods like structural, comparative, logical, predictive, retrospective, graphic, marketing analysis. The results were processed using the normalization method and methods of mathematical statistics.

Results. The monopreparations kept the main share of sales in each region: 90.22% in the Samara region, 90.85% in the Nizhny Novgorod region, and 93.72% in the Republic of Tatarstan). In 2021, the leaders in consumption were ACE inhibitors (28.41%, 26.61% and 32.7%, respectively in each region) and β -blockers (25.87%, 29.02% and 21.15%). In total, these two subgroups accounted for more than a half of all monopreparations sold, counted in packages. In the subgroup of fixed combinations, the angiotensin II receptor blockers + diuretic were the most popular, which account for 35.38%, 29.73% and 22.13% of drug sales in this subgroup in the Samara, Nizhny Novgorod regions and the Republic of Tatarstan, respectively. In the subgroup of combined antihypertensive drugs, the multicomponent fixed combinations were among the leaders (10.22%, 8.20%, 12.10%, respectively in each region), however, in the total consumption of antihypertensive drugs, they accounted for less than 1%.

Conclusion. This study revealed the features of the consumption of drugs prescribed for arterial hypertension in the Samara and Nizhny Novgorod regions, as well as in the Republic of Tatarstan in 2021. We identified the groups of antihypertensive drugs of most demand and found the leaders within these groups. It was established that there was a relationship between the volume of sales of antihypertensive medicines in physical terms (in packages) in the Samara region for the period 2017–2021 and the population of this region.

Keywords: arterial hypertension, antihypertensive drugs, drugs for the treatment of cardiovascular diseases.

Conflict of interest: nothing to disclose.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Артериальная гипертензия (АГ) – это состояние, которое характеризуется повышенным артериальным давлением (АД). Согласно международным клиническим рекомендациям, уровень систолического АД не должен превышать 140 мм рт. ст., а диастолического АД – 90 мм рт. ст. При гипертонической болезни (ГБ) и симптоматических проявлениях АГ повышается риск развития сердечно-сосудистых осложнений, среди которых инсульты, ишемическая болезнь сердца (ИБС) (в том числе инфаркты миокарда, хроническая сердечная недостаточность) и другие [1–4].

По информации ВОЗ, лидирующей среди всех причин смертности является ИБС, на долю которой во всем мире приходится 16% от всех летальных исходов. За последние 20 лет отмечается наибольший рост смертности от данного заболевания. Так, число смертей за период с 2000 по 2019 гг. возросло с 2 млн до 8,9 млн. На следующей позиции находятся инсульты,

на которые приходится примерно 11% от общего числа смертей. Таким образом, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются основной причиной смертности населения на глобальном уровне. По данным Росстата, болезни системы кровообращения (БСК) в Российской Федерации в 2020 году стали причиной 938 536 летальных случаев, что на 97 329 больше показателя 2019 года (841 207 летальных случаев) [5–8].

В Российской Федерации в настоящее время реализуется федеральный проект «Борьба с ССЗ», основной целью которого является 25-процентное снижение смертности от БСК. Реализация проекта направлена на обеспечение доступности диагностики, профилактики и лечения ССЗ [9–12].

Поскольку АГ является основным фактором, сопутствующим развитию летальных сердечно-сосудистых осложнений, особое место в современных международных клинических рекомендациях отводится оценке уровня риска по шкале SCORE

и медикаментозной коррекции уровня АД с помощью антигипертензивных лекарственных препаратов (АГ ЛП). Отмечается, что назначение больным с АГ фиксированных комбинаций для снижения АД повышает комплаентность пациентов и, соответственно, повышает эффективность профилактики сердечно-сосудистых осложнений [13–15].

Для изучения популяционных особенностей потребления ЛП различных фармакотерапевтических групп в настоящее время широко используются инструменты фармакоэпидемиологического анализа. Подобные исследования позволяют оценить рациональность применения ЛП у пациентов, выявить особенности назначения ЛС на амбулаторном и стационарном уровнях оказания медицинской помощи, а также оценить соответствие потребляемой номенклатуры национальным и международным клиническим рекомендациям [16].

Результаты фармакоэпидемиологического мониторинга позволяют не только оценить эффективность потребления ЛП в популяционном масштабе, но и являются основой для разработки методических подходов совершенствования лекарственного обеспечения населения на всех уровнях оказания медицинской и лекарственной помощи. Кроме того, результаты данного анализа могут быть положены в основу фармакоэкономических исследований, которые позволяют выбрать наиболее эффективные (с точки зрения терапевтического эффекта и экономии ресурсов здравоохранения) схемы лекарственной терапии [17].

ЦЕЛЬ

Разработка методических основ совершенствования лекарственного обеспечения пациентов с гипертонической болезнью на основе изучения особенностей популяционного потребления АГ ЛП в розничном секторе фармацевтического рынка отдельных субъектов Российской Федерации (на примере Самарской области, Нижегородской области и Республики Татарстан).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

При проведении исследования использованы методы структурного, сравнительного, логического, прогностического, ретроспективного, графического, маркетингового, фармакоэпидемиологического анализов. Обработка результатов производилась с помощью метода нормализации и методов математической статистики.

Объектом исследования являлась номенклатура АГ ЛП, реализованных в розничном секторе фармацевтического рынка Самарской и Нижегородской областей, а также в Республике Татарстан. Период исследования – 2021 год. Источником информации о номенклатуре и объемах реализации являлась база данных аптек продаж «М-аптека».

В данной базе содержится информация о международных непатентованных наименованиях ЛП

(МНН), торговых наименованиях (ТН) ЛП, форме выпуска, дозировке и количестве доз в упаковке, об объемах реализации в натуральных и денежных показателях. Используемая номенклатура ЛП делилась на подгруппы в соответствии с фармакотерапевтическими группами (АТХ-классификация).

Эти данные использовались для проведения сравнительного анализа особенностей популяционного потребления АГ ЛП. Выбор субъектов РФ обусловлен следующими факторами. Во-первых, представленные регионы входят в состав Приволжского федерального округа, являются крупнейшими регионами в центральной части России с населением более 3 млн человек в каждом субъекте. Во-вторых, данные субъекты РФ в высокой степени насыщены аптечными организациями (по данным территориальных управлений Росздравнадзора по состоянию на 2021 год в каждом регионе функционируют свыше 1600 аптечных организаций). В-третьих, в каждом субъекте РФ прослеживается высокая конкуренция в розничном секторе фармацевтического рынка (на одну аптечную организацию приходится не более 1750 человек). Кроме того, в анализируемых регионах представлена развитая структура медицинских организаций, оказывающих первичную медико-социальную помощь населению.

Статистическая обработка исходных данных осуществлялась с помощью методов описательной статистики с применением статистического программного пакета IBM SPSS Advanced Statistics 24.0 № 5725-A54 (IBM, США). Статистические закономерности отмечались в обобщенных данных. Для обобщения результатов выделялись группировки, проводился расчет сводных показателей в общей структуре и по выделенным группам. Показатель нормальности распределения внутригрупповых количественных признаков проводился с использованием критерия Шапиро – Уилка. Для всех количественных признаков проводилась оценка средних арифметических показателей, а также рассчитывалось медианное значение. Дескриптивные статистики в тексте представлены как $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение и CI – доверительный интервал при нормальном распределении признака или Med при ненормальном распределении признака.

Для построения прогностических вероятностных моделей использовался метод регрессионного анализа. Для оценки уравнений регрессии применялся метод пошагового включения предикторов. Для расчета коэффициентов уравнений регрессии использован метод наименьших квадратов. Оценка качества регрессионных моделей проводилась путем расчета коэффициентов корреляции (R) и коэффициентов детерминации (R^2). Оценка статистической значимости коэффициента детерминации проводилась на основе F -критерия Фишера – Снедекора. Проверка статистической значимости каждого коэффициента уравнений регрессии проводилась путем расчета

t-критериев Стьюдента и определения их доверительных интервалов.

Репрезентативность выборки рассчитана на основе оценки количества натуральных покупок ЛП (в упаковках), реализованных в розничном секторе фармацевтического рынка. Для расчета использована формула:

$$m=2\sqrt{n},$$

где m – полученная численность выборки, n – численность генеральной совокупности.

Под генеральной совокупностью в проводимом исследовании нами подразумевается численность каждого анализируемого субъекта РФ.

Например, численность населения Самарской области в 2021 году составила 3 155 390 человек. Рассчитанная численность выборки для обеспечения ее репрезентативности в данном регионе должна составлять не менее 3,566 тыс. покупок ЛП в год. В 2021 году в данном регионе через анализируемые аптечные организации совершено около 40 млн покупок, что подтверждает репрезентативность полученных данных, то есть соответствие характеристик выборки характеристикам генеральной совокупности.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Была проанализирована структура потребления АГ ЛП в розничном секторе фармацевтического рынка трех субъектов РФ в 2021 году: в Самарской, Нижегородской областях и Республике Татарстан. Анализ показал, что в трех представленных регионах структура реализации АГ ЛП в натуральном выражении (в упаковках) имеет некоторые сходства. Основная доля реализации приходится на монопрепараты (90,22%, 90,85% и 93,72% соответственно). В то же время на долю реализации фиксированных комбинаций приходится не более 10% (таблица 1).

В общем объеме реализации ЛП рассматриваемой группы лидирующими являются ингибиторы АПФ (28,41%, 26,61% и 32,7%) и β -адреноблокаторы (25,87%, 29,02% и 21,15%). Суммарно на доли ЛП двух данных подгрупп приходится более половины всех реализованных ЛП, применяемых при АГ: в Самарской области – 54,28%; в Нижегородской области – 55,63%; в Республике Татарстан – 53,85%. Следовательно, это наиболее востребованные подгруппы АГ ЛП среди населения.

Следующие позиции в рейтинге наиболее востребованных ЛП, назначаемых при АГ, приходятся на следующие подгруппы ЛП: блокаторы кальциевых каналов, статины и прочие монопрепараты и тиазидовые диуретики. В Самарской области на долю их потребления

Таблица 1 / Table 1

Структура потребления ЛП, применяемых при АГ, в розничном секторе фармацевтического рынка отдельных субъектов РФ в 2021 году

The structure of consumption of drugs used in the treatment of arterial hypertension based on the data from the retail sector of the pharmaceutical market of several regions of the Russian Federation in 2021

Название фармакотерапевтической группы / МНН	Доля от объема реализации (в упаковках), %*		
	Субъекты Российской Федерации		
	Самарская область	Нижегородская область	Республика Татарстан
Монопрепараты	90,22	90,85	93,72
Тиазидовые диуретики	8,40	9,45	9,52
гидрохлоротиазид	9,19	6,54	6,69
индапамид	90,81	93,46	93,31
Ингибиторы АПФ	28,41	26,61	32,77
эналаприл	66,10	28,45	41,02
эналаприлат	0,01	0,00	0,01
лизинаприл	8,50	44,55	29,05
периндоприл	7,02	4,32	4,44
рамиприл	0,44	3,66	1,20
фозиноприл	0,23	0,13	0,06
хинаприл	0,03	0,01	0,02
каптоприл	17,64	18,78	24,10
зофеноприл	0,03	0,10	0,11
Блокаторы рецепторов ангиотензина II	4,57	4,62	5,82
лозартан	66,19	59,84	71,21
валсартан	22,19	22,34	22,17
телмисартан	7,32	6,60	4,12
азилсартан	3,87	8,66	1,90
ирбесартан	0,17	1,85	0,35
олмесартан	0,26	0,71	0,26
Блокаторы кальциевых каналов	12,23	12,38	14,64
амлодипин	77,44	71,64	78,92
левамлодипин	0,02	0,05	0,07
верапамил	3,33	9,00	8,25
дилтиазем	0,24	3,00	1,10
нитрендипин	0,10	0,01	0,08
лерканидипин	5,15	6,24	3,70
нифедипин	13,38	9,77	7,61
фелодипин	0,34	0,28	0,28
β-адреноблокаторы	25,87	29,02	21,15
бетаксолол	0,62	0,81	1,01
бисопролол	80,96	74,12	71,35
метопролол	8,09	15,59	14,97
небиволол	0,59	0,89	0,95
карведилол	2,86	1,47	3,11
атенолол	2,09	1,97	2,66
пропранолол	2,63	2,46	4,78
соталол	2,16	2,68	1,16
Статины и прочие монопрепараты, назначаемые при артериальной гипертензии	10,74	8,77	9,82
аторвастатин	46,83	61,24	65,47
ловастатин	0,00	0,00	0,19
питавастатин	0,10	0,21	7,95
розувастатин	11,40	11,42	5,16
симвастатин	9,09	5,20	0,62
фенофибрат	0,10	0,10	0,24
эзетимиб	0,20	0,31	19,74
моксонидин	29,02	15,63	0,59
доксазозин	3,23	5,87	0,03
рилменидин	0,03	0,01	65,47
Фиксированные комбинации	9,78	9,15	6,28
Ингибиторы АПФ + диуретик	2,38	2,10	1,2
каптоприл+ гидрохлоротиазид	2,68	1,40	2,01
лизинаприл+ гидрохлоротиазид	2,26	3,05	6,42
периндоприл+ индапамид	58,69	66,98	67,73

рампиприл+гидрохлоротиазид	2,81	0,50	0,79
хинаприл+гидрохлоротиазид	0,58	0,19	0,11
эналаприл+гидрохлоротиазид	30,46	23,28	18,58
эналаприл+индапамид	1,68	0,27	1,23
лизиноприл+индапамид	0,64	3,38	2,12
рампиприл+индапамид	0,22	0,94	1,01
Ингибиторы АПФ + блокатор кальциевых каналов	0,89	0,85	0,80
амлодипин+лизиноприл	5,89	16,36	18,27
амлодипин+периндоприл	91,89	70,71	71,16
амлодипин+рампиприл	1,91	10,25	9,04
трандолаприл+верапамил	0,17	1,07	0,23
эналаприл+нитрендипин	0,13	0,08	0,08
эналаприл+лерканидипин	0,01	1,52	1,22
Ингибиторы АПФ + β-адреноблокатор	0,06	0,04	0,04
бисопролол+периндоприл	100,00	100,00	100,00
Блокаторы рецепторов ангиотензина II + диуретик	3,46	2,72	1,39
азилсартан+хлорталидон	14,72	36,99	17,13
валсартан+гидрохлоротиазид	15,28	13,97	16,95
ирбесартан+гидрохлоротиазид	0,18	2,83	1,04
кандесартан цилексетил+гидрохлоротиазид	0,74	2,46	1,98
лозартан+гидрохлоротиазид	42,46	33,69	48,75
олмесартана медоксомил+гидрохлоротиазид	0,08	0,36	0,15
эпросартан+гидрохлоротиазид	0,05	0,06	0,02
телмисартан+гидрохлоротиазид	26,49	9,64	13,98
Блокаторы рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов	0,65	0,98	0,95
валсартан+амлодипин	63,83	53,64	70,36
лозартан+амлодипин	23,36	20,95	12,94
олмесартана медоксомил+амлодипин	1,62	4,95	1,02
телмисартан+амлодипин	7,10	6,67	12,11
ирбесартан+амлодипин	4,09	13,79	3,57
β-адреноблокаторы + диуретик	1,27	1,55	1,02
атенолол+хлорталидон	98,45	96,99	95,82
бисопролол+гидрохлоротиазид	1,55	2,92	4,18
небиволол+гидрохлоротиазид	0,00	0,09	0,00
β-адреноблокатор + блокатор кальциевых каналов	0,03	0,12	0,08
атенолол+амлодипин	19,84	0,40	15,63
бисопролол+амлодипин	68,55	99,00	79,01
фелодипин+метопролол	0,00	0,60	4,91
небиволол+амлодипин	11,61	0,00	0,45
блокатор кальциевых каналов + диуретик	0,03	0,03	0,03
амлодипин+индапамид	100,00	100,00	100,00
блокатор кальциевых каналов + статин	0,00	0,00	0,00
амлодипин+аторвастатин	100,00	100,00	100,00
Иные комбинации	0,01	0,01	0,01
эзетимб+розувастатин	100,00	100,00	100,00
Тройные и более комбинации	1,00	0,75	0,76
амлодипин+индапамид+периндоприл	70,22	80,98	63,82
амлодипин+валсартан+гидрохлоротиазид	21,05	11,16	22,88
амлодипин+лизиноприл+розувастатин	5,35	3,93	4,06
амлодипин+индапамид+лизиноприл	0,82	2,55	3,36
индапамид+периндоприл+розувастатин	2,56	1,38	5,88

* Для каждой фармакотерапевтической группы указаны доли от общего объема реализации в упаковках, для МНН приведена доля в общей структуре объема реализации в разрезе фармакотерапевтической группы.

приходится соответственно 12,23%, 10,74% и 8,40%; в Нижегородской области – 12,38%, 8,77% и 9,45%; в Республике Татарстан – 14,64%, 9,82% и 9,52%.

Помимо сходств в структуре реализации АГ ЛП в разных субъектах РФ, были выявлены и различия. Так, можно увидеть, что в подгруппе монопрепаратов в Самарской области и в Республике

Татарстан самыми потребляемыми являются ингибиторы АПФ (28,41% и 32,77%), в то время как в Нижегородской области лидеры продаж – β-адреноблокаторы (29,02%).

Различия в структуре потребления прослеживаются и на примере других подгрупп монопрепаратов. Так, во всех трех регионах третью позицию в рейтинге наиболее востребованных АГ ЛП занимают блокаторы кальциевых каналов (12,23%, 12,38% и 14,64%), а четвертую в Самарской области и Республике Татарстан – статины и прочие монопрепараты, назначаемые при АГ (10,74% и 9,82%). При этом в Нижегородской области на четвертом месте находятся тиазидовые диуретики (9,45%) (рисунки 1–3).

В трех представленных регионах в структуре розничных продаж ЛП, назначаемых при АГ, в подгруппе фиксированных комбинаций (ФК) чаще всего посетители аптек приобретали комбинированные ЛП «блокаторы рецепторов ангиотензина II + диуретик», на которые приходится 35,38%, 29,73% и 22,13% продаж данной подгруппы в Самарской, Нижегородской областях и Республике Татарстан соответственно. Вторую позицию в рейтинге наиболее востребованных ФК среди населения занимают «ингибиторы АПФ+диуретик». Доли их потребления в трех рассматриваемых субъектах составляют 24,34%, 22,95% и 19,11%.

На следующих позициях рейтинга по объему реализации в натуральном выражении располагаются «β-адреноблокаторы + диуретик» (12,99%, 16,94%, 16,24%). Далее структура потребления ЛП подгруппы фиксированных комбинаций в трех регионах становится разной. В Самарской области в порядке убывания находятся тройные и более комбинации (10,22%), «ингибиторы АПФ + блокатор кальциевых каналов» (9,1%), «блокаторы рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов» (6,65%). В Нижегородской области и Республике Татарстан – «блокаторы рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов» (10,71% и 15,13%), «ингибиторы АПФ + блокатор кальциевых каналов» (9,29% и 12,74%), тройные и более комбинации (8,20% и 12,10%) (таблица 2).



Рисунок 1. Структура розничной реализации монопрепаратов, назначаемых для лечения АГ, в Самарской области в 2021 году, % *.

Figure 1. The structure of retail sales of single drugs prescribed for the treatment of hypertension in the Samara region, 2021, % *.

Также были выявлены различия основных предпочтений покупателей внутри рассматриваемых фармакотерапевтических групп. В подгруппе «ингибиторы АПФ» в Самарской области и в Республике Татарстан наиболее востребовано МНН эналаприл. На его долю потребления внутри фармакотерапевтической группы приходится 66,1% и 41,02% соответственно. В Нижегородской области лидером является МНН лизиноприл, на долю которого приходится 44,55%. В группе «β-адреноблокаторы» во всех трех субъектах РФ самым потребляемым является биспролол (80,96%, 74,12%, 71,35%). Среди группы «блокаторы рецепторов ангиотензина II» чаще всего покупают лозартан (66,19%, 59,84% и 71,21%), в группе «блокаторы кальциевых каналов» – амлодипин (77,44%, 71,64%, 78,92%). Самым популярным ЛП, относящимся к группе статинов, является аторвастатин (46,83%, 61,24%, 65,47%).

В группе фиксированных комбинаций лидерами продаж во всех рассматриваемых субъектах РФ являются «периндоприл+индапамид», «амлодипин+периндоприл», «лозартан+гидрохлоротиазид», «валсартан+амлодипин», «атенолол+хлорталидон», «биспролол+амлодипин», «амлодипин+индапамид+периндоприл».

В результате корреляционного анализа установлено наличие взаимосвязи между различными факторами, например, между объемами реализации ЛП в натуральном выражении (в упаковках), назначаемых при АГ, и численностью населения субъектов РФ.

В частности, в Самарской области на фоне снижения численности населения наблюдается рост потребления ЛП рассматриваемой группы.



Рисунок 2. Структура розничной реализации монопрепаратов, назначаемых для лечения АГ, в Нижегородской области в 2021 году, % *.

Figure 2. The structure of retail sales of single drugs prescribed for the treatment of hypertension in the Nizhny Novgorod region, 2021, % *.



* – общая структура реализации препаратов в розничном секторе по количеству упаковок.

Рисунок 3. Структура розничной реализации монопрепаратов, назначаемых для лечения АГ, в Республике Татарстан в 2021 году, % *.

Figure 3. The structure of retail sales of single drugs prescribed for the treatment of hypertension in the Republic of Tatarstan, 2021, % *.

На наш взгляд, это связано с ростом заболеваемости COVID-19 в период с 2020 по 2021 гг. По результатам анализа были построены регрессионные модели и проведен факторный анализ. В **таблице 3**

Таблица 2 / Table 2

Структура потребления фиксированных комбинаций ЛП, применяемых при АГ, в розничном секторе фармацевтического рынка отдельных субъектов РФ в 2021 году
The structure of consumption of fixed combinations of drugs used in the treatment of arterial hypertension in the retail sector of the pharmaceutical market of several region of the Russian Federation in 2021

Название фармакотерапевтической группы / МНН	Доля от объема реализации (в упаковках) в подгруппе фиксированных комбинаций, % *		
	Субъекты Российской Федерации		
	Самарская область	Нижегородская область	Республика Татарстан
Ингибиторы АПФ + диуретик	24,34	22,95	19,11
Ингибиторы АПФ + блокатор кальциевых каналов	9,10	9,29	12,74
Ингибиторы АПФ + β -адреноблокатор	0,61	0,44	0,64
Блокаторы рецепторов ангиотензина II + диуретик	35,38	29,73	22,13
Блокаторы рецепторов ангиотензина II + блокатор кальциевых каналов	6,65	10,71	15,13
β -адреноблокаторы + диуретик	12,99	16,94	16,24
β -адреноблокатор + блокатор кальциевых каналов	0,31	1,31	1,27
Блокатор кальциевых каналов + диуретик	0,31	0,33	0,48
Блокатор кальциевых каналов + статин	0,00	0,00	0,00
Иные комбинации	0,10	0,11	0,16
Тройные и более комбинации	10,21	8,19	12,10
ИТОГО	100,00	100,00	100,00

представлены примеры для ЛП с наиболее выраженной корреляционной зависимостью.

ОБСУЖДЕНИЕ

В соответствии с современными международными рекомендациями назначение фиксированных комбинаций для профилактики и лечения АГ повышает приверженность населения к фармакотерапии, что приводит к повышению эффективности лекарственной коррекции АГ. Проведенный анализ позволил установить, что доля потребления АГ ЛП в виде фиксированных комбинаций в розничном секторе фармацевтического рынка анализируемых субъектов РФ составляет от 6,28% до 9,78.

Таблица 3 / Table 3

Взаимосвязь объемов потребления ЛП, применяемых при АГ, в Самарской области за период 2017–2021 гг. с численностью населения региона
The relationship between the volumes of consumption of drugs used for arterial hypertension in the Samara region for the period 2017–2021 and the population of the region

№	Наименование группы / МНН ЛП	Регрессионная и факторная модели	Статистическая оценка моделей
1	Статины	$Y = -24535,2 + 19325,4t$ $Y = 5648426,0 - 2,0X$	$R = 0,946$ $R^2 = 0,895$ $F = 25,514$ $p < 0,01497$ $R = 0,989$ $R^2 = 0,979$ $F = 136,80$ $p < 0,00134$
2	розувастатин	$Y = -2776,65 + 2358,00t$ $Y = 660596,9 - 0,2X$	$R = 0,977$ $R^2 = 0,954$ $F = 62,325$ $p < 0,22424$ $R = 0,978$ $R^2 = 0,958$ $F = 67,516$ $p < 0,00377$
3	периндоприл+индапамид	$Y = -3699,22 + 2457,55t$ $Y = 744234,2 - 0,2X$	$R = 0,894$ $R^2 = 0,799$ $F = 11,991$ $p < 0,00456$ $R = 0,970$ $R^2 = 0,941$ $F = 47,788$ $p < 0,0062$
4	лозартан+гидрохлоротиазид	$Y = -2016,15 + 2681,75t$ $Y = 73577,9 - 0,2X$	$R = 0,984$ $R^2 = 0,968$ $F = 89,993$ $p < 0,00248$ $R = 0,963$ $R^2 = 0,928$ $F = 38,838$ $p < 0,00833$
5	валсартан+амлодипин	$Y = -1169,18 + 758,56t$ $Y = 229520,0 - 0,1X$	$R = 0,897$ $R^2 = 0,804$ $F = 12,281$ $p < 0,03935$ $R = 0,972$ $R^2 = 0,944$ $F = 50,55$ $p < 0,00573$

Примечание: t – временной период регрессионной модели для оценки тренда динамики изменения;
 X – внешний фактор – численность населения Самарской области (чел.).

Несмотря на то что в подгруппе комбинированных АГ ЛП многокомпонентные фиксированные комбинации находятся в числе лидирующих (10,22%, 8,20%, 12,10%), в общем объеме потребления ЛП данной группы на их долю приходится не более 1%, что не соответствует современным международным рекомендациям.

На основе проведенных фармакоэпидемиологических исследований нами разработаны методические рекомендации по совершенствованию лекарственного обеспечения пациентов, страдающих ГБ. В частности, в методических рекомендациях обоснована необходимость разработки образовательной программы для медицинских и фармацевтических специалистов (программы «Современный ассортимент ЛП, назначаемых для профилактики и лечения ГБ») и повышения роли провизоров при проведении фармацевтического консультирования врачей (в части информирования специалистов о появлении новых современных ЛП рассматриваемой фармакотерапевтической группы).

Кроме того, практическая значимость проведенного исследования заключается в разработке базы данных товарного ассортимента (ассортимента АГ ЛП, потребляемых в различных субъектах РФ). Результаты данного анализа

могут быть использованы фармацевтическими организациями (фармацевтическими организациями оптовой торговли и аптечными организациями) для определения потребности в закупке ЛП анализируемой группы.

ВЫВОДЫ

1. Изучены особенности популяционного потребления лекарственных препаратов, назначаемых при артериальной гипертензии, в Самарской и Нижегородской областях, а также в Республике Татарстан в 2021 году.

2. Основная доля реализации приходится на монопрепараты (90,22%, 90,85% и 93,72%).

3. В 2021 году лидерами потребления являлись ингибиторы АПФ (28,41%, 26,61% и 32,7%) и β-адреноблокаторы (25,87%, 29,02% и 21,15%), суммарно на доли ЛП двух данных подгрупп приходится более половины всех реализованных препаратов рассматриваемой группы (в упаковках).

4. В подгруппе фиксированных комбинаций наиболее востребованы «блокаторы рецепторов ангиотензина II + диуретик», на долю которых приходится 35,38%, 29,73% и 22,13% продаж ЛП данной подгруппы в Самарской, Нижегородской областях и Республике Татарстан соответственно.

5. В подгруппе комбинированных АГ ЛП многокомпонентные фиксированные комбинации находятся в числе лидирующих (10,22%, 8,20%, 12,10%), однако в общем объеме потребления АГ ЛП на их долю приходится не более 1%.

6. Установлены наиболее востребованные ЛП внутри фармакотерапевтических групп.

7. В структуре аптечных продаж Самарской и Нижегородской областей, а также Республики Татарстан доля потребления АГ ЛП в виде фиксированных комбинаций составляет от 6,28% до 9,78%, что не соответствует современным клиническим рекомендациям «Артериальная гипертензия у взрослых».

8. Установлено наличие зависимости между объемами реализации ЛП в натуральном выражении (в упаковках), назначаемых при АГ, в Самарской области за период 2017–2021 гг. и численностью населения данного региона. Построены регрессионные и факторные модели выявленной зависимости.

9. Обоснована необходимость разработки образовательной программы для медицинских и фармацевтических специалистов, а также повышения роли провизоров при проведении фармацевтического консультирования врачей.

10. Разработана база данных товарного ассортимента (ассортимента АГ ЛП, потребляемых в различных субъектах РФ).

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Arterial hypertension in adults. Clinical guidelines 2020. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(3):3786. (In Russ.). [Артериальная гипертензия у взрослых. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(3):3786]. doi: 10.15829/1560-4071-2020-3-3786
2. Kobalava ZhD, Konradi AO, Nedogoda SV. Russian of Cardiology position paper on 2018 Guidelines of the European Society of Cardiology / European Society of Arterial Hypertension for the management of arterial hypertension. *Russian Journal of Cardiology*. 2018;23(12):131-142. (In Russ.). [Кобалава Ж.Д., Конради А.О., Недогода С.В. Меморандум экспертов Российского кардиологического общества по рекомендациям Европейского общества кардиологов / Европейского общества по артериальной гипертензии по лечению артериальной гипертензии 2018 г. *Российский кардиологический журнал*. 2018;23(12):131-142]. doi: 10.15829/1560-4071-2018-12-131-142
3. Chazova IE, Zhernakova YuV. Clinical guidelines. Diagnosis and treatment of arterial hypertension. *Systemic Hypertension*. 2019;16(1):6-31. (In Russ.). [Чазова И.Е., Жернакова Ю.В. Клинические рекомендации. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. *Системные гипертензии*. 2019;16(1):6-31]. doi: 10.26442/2075082X.2019.1.190179
4. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *European Heart Journal*. 2021;42:3227-3337. doi: 10.1093/eurheartj/ehab484
5. Mortality by major causes of death. In: Russian Statistical Yearbook, 2021. [Смертность по основным классам причин смерти. В кн.: Российский статистический ежегодник 2021. (In Russ.). Available at: https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Ejegodnik_2021.pdf
6. World Health Organization. The top 10 causes of death. Geneva: WHO; 2020. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (9 December 2022).
7. World Health Organization. WHO reveals leading causes of death and disability worldwide: 2000–2019. Geneva: WHO; 2020. <https://www.who.int/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019> (9 December 2022).
8. Statistics of morbidity and mortality from diseases of the circulatory system. (In Russ.). [Статистика заболеваемости и смертности от болезней системы кровообращения]. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019> (9 December 2022).
9. "On approval of the standard for primary health care for primary arterial hypertension (hypertension)". Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated November 2012 No. 708n. (In Russ.). [«Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при первичной артериальной гипертензии (гипертонической болезни)». Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 9 ноября 2012 г. № 708н]. Available at: <https://minzdrav.gov.ru/documents/8390-prikaz-ministerstva-zdravooxraneniya-rossiyskoy-federatsii-ot-9-noyabrya-2012-g-708n-ob-utverzhdenii-standarta-pervichnoy-mediko-sanitar-noy-pomoschi-pri-pervichnoy-arterialnoy-gipertenzii-gipertonicheskoy-bolezni> (09 November 2012).
10. The fight against cardiovascular diseases in the Russian Federation. (In Russ.). [Борьба с сердечно-сосудистыми заболеваниями в РФ]. Available at: https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attachest/000/046/710/original/FP_Bor'ba_s_serdechno-sosudistyimi_zabolevaniyami.pdf?1565344425 (16 июля 2019).
11. "On approval of the state program of the Russian Federation "Health Development"". Decree of the Government of the Russian Federation of December 26, 2017 No. 1640. (In Russ.). [«Об утверждении государственной программы

- Российской Федерации "Развитие здравоохранения". Постановление Правительства РФ от 26 декабря 2017 г. № 1640]. Available at: <https://base.garant.ru/71848440>
12. "On Amendments to the State Program of the Russian Federation "Health Development". Decree of the Government of the Russian Federation of March 31, 2021 No. 512. (In Russ.). «О внесении изменений в государственную программу Российской Федерации "Развитие здравоохранения"». Постановление Правительства РФ от 31 марта 2021 г. № 512]. Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/400456274>
 13. Mubarakshina OA, Somova MN, Batishcheva GA. Modern combination antihypertensive pharmacotherapy. *Systemic Hypertension*. 2018;15(4):30-33. (In Russ.). [Мубаракшина О.А., Сомова М.Н., Батищева Г.А. Современная комбинированная фармакотерапия артериальной гипертензии. *Системные гипертензии*. 2018;15(4):30-33]. doi: [10.26442/2075082X.2018.4.180149](https://doi.org/10.26442/2075082X.2018.4.180149)
 14. Morozova T.E. Combined antihypertensive therapy in the light of modern recommendations: strategy of one tablet. *Systemic Hypertension*. 2018;15(4):92-96. (In Russ.). [Морозова Т.Е. Комбинированная антигипертензивная терапия в свете современных рекомендаций: стратегия одной таблетки. *Системные гипертензии*. 2018;15(4):92-96]. doi: [10.26442/2075082X.2018.4.180110](https://doi.org/10.26442/2075082X.2018.4.180110)
 15. Chazova IE, Aksenova AV, Zhernakova YuV. "Polypill" conception in modern cardiology. *Systemic Hypertension*. 2018;15(4):6-7. (In Russ.). [Чазова И.Е., Аксенова А.В., Жернакова Ю.В. Концепция «полипилл» в современной кардиологии. *Системные гипертензии*. 2018;15 (4): 6-7]. doi: [10.26442/2075082X.2018.4.180116](https://doi.org/10.26442/2075082X.2018.4.180116)
 16. Belousov DYU, Cheberda AE. Pharmacoepidemiological studies: methodology and regulation. *Kachestvennaya Klinicheskaya Praktika*. 2017;(1):34-41. (In Russ.). [Белоусов Д.Ю., Чеберда А.Е. Фармакоэпидемиологические исследования: методология и регулирование. *Качественная клиническая практика*. 2017;(1):34-41].
 17. Rachina SA, Kozlov RS, Belkova YuA. Pharmacoepidemiology: from theory to practice. *Farmakoeconomika. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology*. 2014;7(1):33-39. (In Russ.). [Рачина С.А., Козлов Р.С., Белькова Ю.А. Фармакоэпидемиология: от теоретических основ к практическому применению. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2014;7(1):33-39].

■ Автор для переписки

Блинкова Полина Романовна
Адрес: Самарский государственный медицинский университет,
ул. Гагарина, 16а, г. Самара, Россия, 443079.

■ Corresponding Author

Polina R. Blinkova
Address: Samara State Medical University, 16a Gagarin st., Samara,
Russia, 443079.

E-mail: p.r.blinkova@samsmu.ru

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРЕБОВАНИЙ К СОДЕРЖАНИЮ ПРОТОКОЛОВ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В МЕЖДУНАРОДНЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТАХ

А.А. Елескина, Н.В. Пятигорская, О.В. Филиппова

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России (Москва, Россия)

Для цитирования: Елескина А.А., Пятигорская Н.В., Филиппова О.В. Сравнительный анализ требований к содержанию протоколов клинических исследований в международных нормативных документах. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):23-26. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.23-26

■ Сведения об авторах

Елескина А.А. – соискатель на получение ученой степени кандидата наук. ORCID: 0000-0002-2152-6728

E-mail: anastasia.eleskina@yandex.ru

Пятигорская Н.В. – д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой промышленной фармации. ORCID: 0000-0003-4901-4625

E-mail: osipova-mma@list.ru

Филиппова О.В. – д-р мед. наук, профессор кафедры промышленной фармации. ORCID: 0000-0001-9470-6335 E-mail: ffiona@mail.ru

Рукопись получена: 19.07.2022

Рецензия получена: 02.11.2022

Решение о публикации: 06.12.2022

■ Аннотация

Цель – рассмотреть международные нормативные документы на предмет требований к содержанию протокола как основного документа клинического исследования.

Материал и методы. Были рассмотрены ICH GCP, Директива ЕС 536/2014, Приказ 200н, Правила надлежащей клинической практики ЕАЭС и документы FDA. Анализ был проведен по 46 пунктам раздела 6 ICH GCP E6 (R2).

Результаты. Из 46 рассмотренных пунктов, включающих требования к содержанию протоколов, 40 пунктов во всех изученных документах идентичны. Кардинальные отличия содержит в себе Директива ЕС 236/2014, в которой отсутствует 6 пунктов требований и есть пункты, которые не отражены ни в одном из остальных четырех документов.

Выводы. Директива требует от разработчиков протоколов более подробного и качественного подхода к их написанию, предписывает более подробное описание тех или иных мер и предоставление более полной информации о препаратах. Данный документ не является взаимозаменяемым с остальными четырьмя нормативными документами. Спонсорам необходимо более внимательно анализировать возможность проведения в РФ исследований по протоколам, разработанным в ЕС, обращая внимание на дополнительные пункты требований.

■ **Ключевые слова:** клинические исследования, протокол клинического исследования, GCP, регуляторные документы.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

■ Список сокращений

КИ – клинические исследования; ICH CGP – International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, International Conference on Harmonisation Good Clinical Practice; FDA – Food and Drug Agency.

A COMPARATIVE ANALYSIS OF CONTENT REQUIREMENTS FOR CLINICAL TRIALS PROTOCOLS IN INTERNATIONAL REGULATORY DOCUMENTS

Anastasiya A. Eleskina, Natalya V. Pyatigorskaya, Olga V. Filippova

Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Citation: Eleskina AA, Pyatigorskaya NV, Filippova OV. A comparative analysis of content requirements for clinical trials protocols in international regulatory documents. *Aspirantskiy vestnik Povolzhya*. 2022;22(4):23-26. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.23-26

■ Information about authors

Anastasiya A. Eleskina – an external PhD student. ORCID: 0000-0002-2152-6728 E-mail: anastasia.eleskina@yandex.ru

Natalya V. Pyatigorskaya – PhD, Professor, Head of the Industrial Pharmacy Department. ORCID: 0000-0003-4901-4625

E-mail: osipova-mma@list.ru

Olga V. Filippova – PhD, Professor, Industrial Pharmacy Department. ORCID: 0000-0001-9470-6335 E-mail: ffiona@mail.ru

Received: 19.07.2022

Revision Received: 02.11.2022

Accepted: 06.12.2022

■ Abstract

Aim – to review the international regulatory documents on the requirements for the content of the protocol as the main document of a clinical trial.

Material and methods. The ICH GCP, the EU Directive 536/2014, the Order 200n, the Rules of Good Clinical Practice of the EAEU and the FDA documents were reviewed. The analysis followed the 46 points of section 6 of ICH GCP E6 (R2).

Results. As a result, 40 of the 46 points, considering the protocols' content requirements, in all analyzed documents were similar. The essential differences were found in the Directive EU 236/2014. Firstly, the 6 points of the requirements were lacking; secondly, it contained points that were not reflected in any of the other 4 documents.

Conclusion. The Directive EU 236/2016 obliges the protocol developers to employ a more detailed and qualitative approach to the protocol creation and prescribes to provide a more detailed description of certain measures and information about drugs. The Directive EU 236/2016 is not interchangeable with the 4 regulatory documents mentioned above. Sponsors need to more carefully analyze the possibility of conducting clinical trials in the Russian Federation according to the protocols developed in the EU, paying attention to the additional points of the local requirements.

- **Keywords:** clinical trials, clinical trial protocol, GCP, regulatory documents.
- **Conflict of interest:** *nothing to disclose.*

ВВЕДЕНИЕ

Клинические исследования (КИ) лекарственных препаратов являются важной частью жизненного цикла любого лекарственного средства [1]. Только за 2020 год Минздрав РФ выдал 734 разрешения на проведение КИ на территории страны [2]. В настоящее время испытания лекарственных средств, участниками которых в качестве субъектов являются люди, регламентируются национальной законодательной базой и стандартами Международного совета по гармонизации технических требований к регистрации фармацевтических продуктов, предназначенных для применения человеком (ICH), а именно: ICH E6 Good Clinical Practice во второй редакции. Данная практика призвана обеспечить уверенность в том, что представленные в ходе испытаний данные и результаты заслуживают доверия, и гарантирует, что права, целостность и конфиденциальность субъектов защищены [3]. На данный момент правила GCP являются гармонизированными, то есть отражают и объединяют существующие нормативные документы, действующие на территории Евросоюза, США, Японии, Канады. Это означает, что существующая в этих странах нормативная база, регулирующая проведение клинических испытаний, создана на основе правил надлежащей клинической практики и является взаимозаменяемой. Более того, на основании GCP были созданы локальные нормативные документы для стран – участниц ЕЭС, а также для РФ.

Наиболее важным документом для исследователей в клинических испытаниях, помимо брошюры, является протокол. В тексте документа надлежащей клинической практики дается следующее определение понятия «протокол»: «Документ, который описывает цель (и), дизайн, методологию, статистические соображения и организацию испытания» [4]. Протокол является своеобразной инструкцией по проведению КИ, в которой описывается, как и зачем оно будет проводиться [5–9]. Он содержит предписания с конкретными задачами и указаниями по их выполнению для всех, кто принимает участие в КИ. Спонсор должен гарантировать, что протокол составлен в соответствии с правилами ICH GCP.

Очевидно, что правила надлежащей клинической практики содержат четкие требования, касающиеся структуры и содержания протокола КИ. Эти же предписания отражены в локальных нормативных документах, регламентирующих организацию и проведение клинических испытаний.

ЦЕЛЬ

Провести сравнительный анализ нормативной документации, созданной на основе надлежащей клинической практики, и оценить требования к содержанию протоколов КИ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Основными методами исследования являются: литературный поиск, сравнительный анализ. Объектами исследования являются международные правила надлежащей клинической практики ICH GCP [3], требования Европейского регулятора в виде Директивы ЕС 536/2014 [10], национальные требования в виде Приказа 200н [11], Правил надлежащей клинической практики ЕЭС [12] и руководство надлежащей клинической практики FDA [3] соответственно для ЕС, РФ, ЕАЭС и США на наличие требований к содержанию протокола КИ. Анализ был проведен по 46 пунктам раздела 6 ICH GCP E6 (R2).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведя сравнительный анализ документов, регулирующих организацию КИ, было установлено, что из 46 пунктов требований к содержанию протоколов КИ 40 пунктов требований во всех изученных документах идентичны. В Директиве ЕС 236/2014 выявлены расхождения от остальных 4 документов. Расхождения заключаются в отсутствии 6 пунктов требований к содержанию протоколов КИ. Обнаруженные отличия представлены в **таблице 1**.

ОБСУЖДЕНИЕ

Если говорить о пунктах, касающихся контактных данных медицинского эксперта, врача, отвечающего за принятие решений медицинского характера, и контактных данных лаборатории, то стоит отметить, что данная информация не является столь важной для обеспечения безопасности пациентов в исследованиях. Спонсор или контрактная организация, проводящая исследования, располагают необходимыми контактными данными. Контактные данные главного исследователя подаются в регуляторные органы для одобрения исследования, а также имеются у мониторинговой команды, поэтому отсутствие этих данных не является критичным.

Также в требованиях к содержанию протоколов в Директиве ЕС 236/2014 отсутствует описание целей и задач исследования.

Таблица 1 / Table 1

Отличия требований к содержанию протоколов в нормативных документах
The differences in the requirements for the protocols' content in the regulatory documents

	ICH GCP	Директива ЕС 236/2014	Приказ 200н	Правила GCP ЕЗАС	ICH GCP FDA
Контактные данные медицинского эксперта, назначенного спонсором	+	-	+	+	+
Контактные данные главного исследователя	+	-	+	+	+
Контактные данные квалифицированного врача, отвечающего за принятие решений медицинского характера	+	-	+	+	+
Контактные данные лаборатории, вовлеченной в исследования	+	-	+	+	+
Детальное описание целей и задач исследования	+	-	+	+	+
Финансирование и страхование	+	-	+	+	+

Информация, касающаяся финансирования и страхования пациентов, присутствует в общем документе ICH GCP, однако отсутствует в Директиве ЕС 236/2014. Это вызывает вопросы, поскольку все страны, кроме США, требуют от спонсоров страхования участников исследований [13]. Более того, в Директиве 2001/20/ЕС (статья 3.2f) [14], которая утратила свою силу в связи с выходом Директивы 236/2014, было указано, что КИ может проводиться, только если предусмотрены страхование или возмещение убытков для покрытия ответственности исследователя и спонсора. В действующей в настоящее время Директиве упоминания о страховании и финансировании нет, есть лишь требование (статья 17) по описанию мер по оказанию субъектам помощи после завершения их участия в КИ, если такая дополнительная помощь необходима в связи с участием субъектов в КИ и если она отличается от стандартной ожидаемой помощи при рассматриваемом медицинском состоянии. Возможно, что данное требование и подразумевает какое-либо финансирование и страхование пациентов.

Несмотря на то что в данном нормативном документе отсутствуют требования по 6 пунктам, в нем также имеются требования к протоколам, которые не отражены ни в одном из остальных четырех документов.

Особое внимание в Директиве уделено защите персональных данных пациентов, а именно обеспечению конфиденциальности документов, а также конкретным мерам в случае ее нарушения.

Кроме того, данный документ регламентирует наличие в протоколах описания правил сбора, хранения и последующего использования биологических образцов субъектов КИ и мер по уничтожению и возврату лекарственных препаратов, применяемых в исследовании.

Нельзя не отметить и требование, связанное с подробным описанием процедуры получения информированного согласия от пациентов.

Также в Директиве присутствует требование о наличии декларации спонсора, подтверждающей, что исследователи и учреждения, участвующие в клиническом исследовании, дали разрешение

на мониторинг, аудиты и регуляторные инспекции в связи с КИ, включая положение о непосредственном доступе к первичным данным и документам. Должно быть отражено и описание конкретных мер мониторинга.

Акцент также сделан на требования к препаратам, применяемым в ходе исследования. Так, должно быть указано, разрешены ли исследуемые лекарственные препараты и вспомогательные лекарственные препараты. Если они разрешены, то будут ли совпадать условия их применения в КИ с условиями их разрешений на продажу, а если не разрешены, то необходимо обоснование применения неразрешенных вспомогательных лекарственных препаратов в клиническом исследовании. Есть допущение о том, что если КИ проводится с действующим веществом, доступным в Союзе под другими торговыми названиями в составе ряда разрешенных лекарственных препаратов, в протоколе допускается ограничиться указанием действующего вещества или кода анатомо-терапевтической-химической классификации (уровни 3–5), не указывая торговое название каждого препарата.

На первый взгляд, кажется, что данная директива не устанавливает жестких рамок для разработчиков протокола, так как отсутствуют некоторые требования из надлежащей клинической практики. Однако, несмотря на это, данный документ содержит требования для более подробного описания процесса получения информированного согласия, мер по защите конфиденциальности субъектов исследований с позиции их персональных данных, их биологических образцов, по описанию конкретных шагов по уничтожению и возврату лекарственных препаратов исследования, а также информации о применяемых в исследовании препаратах. Таким образом, Директива требует от разработчиков протоколов более подробного и качественного подхода к их написанию, связанного с озабоченностью регуляторных органов о безопасности пациентов, в связи с чем данный нормативный документ предписывает всеобъемлющее описание тех или иных мер и предоставление более полной информации о препаратах. Таким образом, мы можем сделать вывод о том, что данный документ не является взаимозаменяемым

с остальными четырьмя нормативными документами. Это означает, что при желании, например, российской фармацевтической компании или любой компании из Евразийского экономического союза провести клинические испытания на территории Европейского союза могут возникнуть проблемы, и протокол придется переписывать под требования регуляторных органов ЕС. При этом и у европейских компаний сложится аналогичная ситуация с органами здравоохранения РФ, стран – участниц ЕАЭС, США и стран – участниц ИЧН.

Остальные рассмотренные нормативно-правовые акты являются взаимозаменяемыми. Следовательно, при подаче протокола в регуляторные органы любой из этих стран – участниц гармонизации ИЧН, в том числе РФ и стран ЕАЭС, проблем при выдаче разрешения на проведение КИ на территории этих стран возникнуть не должно, так как данная нормативная база содержит идентичные пункты требований к содержанию протоколов КИ. Это подтверждает тот факт, что GCP в рассмотренных документах при их написании было взято за основу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Необходимо более внимательно анализировать возможность проведения в РФ исследований по протоколам, разработанным в ЕС, обращая внимание на разделы, связанные с защитой личных данных пациента, а также на требования к страховым искам.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kolesnikov SI, Khokhlov AL, et al. Industrial Pharmacy: The way to create a product. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;54;5:544-546. (In Russ.). [Колесников С. И., Хохлов А.Л., и др. Промышленная фармацевтика. Путь создания продукта. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54;5:544-546]. doi: 10.30906/0023-1134-2020-54-5-62-64
2. Register of permits for conducting clinical trials of medicines. (In Russ.). [Реестр разрешений на проведение клинических исследований лекарственных средств]. Available at: <https://grls.rosminzdrav.ru/CiPermitReg.aspx?PermYear=0&Datelnc=&NumInc=&DateBeg=01.01.2020&DateEnd=31.12.2020&Protocol=&RegNm=&Statement=&Protold=&idCIS=tatementCh=&Qualifier=&CiPhase=&RangeOfApp=&Torg=&LFDos=&Producer=&Researcher=&sponsorCountry=&MedB>

aseCount=&CiType=&PatientCount=&OrgDocOut=2&Status=&NotInReg=0&All=0&PageSize=8&order=dateperm&orderType=desc&pagenum=1

3. Guideline I. C. H. H. *Integrated Addendum to ICH E6 (E1): Guideline for Good Clinical Practice E6 (R2)*. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/E6_R2_Addendum.pdf.
4. European Medicines Agency. Integrated addendum to ICH E6Rr1: guideline for good clinical practice E6 (R2). 2016:12.
5. Cipriani A, Barbui C. What is a clinical trial protocol? *Epidemiology and Psychiatric Sciences*. 2010;19;2:116-117. doi: 10.1017/S1121189X00000804
6. Chan AW, et al. SPIRIT 2013 statement: defining standard protocol items for clinical trials. *Annals of internal medicine*. 2013;158;3:200-207. doi: 10.7326/0003-4819-158-3-201302050-00583
7. Tetzlaff JM, et al. Guidelines for randomized clinical trial protocol content: a systematic review. *Systematic reviews*. 2012;1(1):1-11. doi: 10.1186/2046-4053-1-43
8. Tetzlaff JM, Moher D, Chan AW. Developing a guideline for clinical trial protocol content: Delphi consensus survey. *Trials*. 2012;13(1):1-10. doi: 10.1186/1745-6215-13-176
9. Moher D, Chan AW. SPIRIT (standard protocol items: recommendations for interventional trials). *Guidelines for Reporting Health Research: a user's manual*. 2014:56-67. doi: 10.1002/9781118715598.ch7
10. European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EU) No 536/2014 of the European Parliament and of the Council of 16 April 2014 on clinical trials on medicinal products for human use, and repealing Directive 2001/20/EC. Available at: https://ec.europa.eu/health/system/files/2016-11/reg_2014_536_en_0.pdf
11. "On approval of the rules of good clinical practice". Order of the Ministry of Health of Russia dated April 01, 2016 N 200n. (In Russ.). [«Об утверждении правил надлежащей клинической практики». Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 200н]. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_203764
12. Rules for Supervision of Clinical Practice of the Eurasian Economic Union, approved by the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 3, 2016. (In Russ.). [Правила надзора за клинической практикой Евразийского экономического союза, утверждены Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г.].
13. Mackintosh DR, Molloy V. Differences in clinical trial conduct in US and EU investigational sites. *The Quality Assurance Journal: The Quality Assurance Journal for Pharmaceutical, Health and Environmental Professionals*. 2001;5(1):13-17. doi: 10.1002/qaj.126
14. European Parliament and the Council of the European Union. Regulation (EU) No 2001/20. Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:02001L0020-20090807&from=EN>

■ Автор для переписки

Елескина Анастасия Александровна

Адрес: Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, г. Москва, Россия, 119991.

■ Corresponding Author

Anastasiya A. Eleskina

Address: Sechenov First Moscow State Medical University, 8/2 Trubetskaya st., Moscow, Russia, 119991.

E-mail: anastasia.eleskina@yandex.ru

3.1.7. СТОМАТОЛОГИЯ / DENTISTRY

УДК 616.311.2-007.41-02-092

DOI: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.27-32

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА РЕЦЕССИИ ДЕСНЫ

М.А. Постников, А.В. Винник, Р.Р. Рахимов, И.А. Костионова-Овод, С.В. Винник

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

Для цитирования: Постников М.А., Винник А.В., Рахимов Р.Р., Костионова-Овод И.А., Винник С.В. **Современные аспекты этиопатогенеза рецессии десны. Аспирантский вестник Поволжья.** 2022;22(4):27-32. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.27-32

■ Сведения об авторах

Постников М.А. – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии. ORCID: 0000-0002-2232-8870

E-mail: m.a.postnikov@samsmu.ru

Винник А.В. – ассистент кафедры терапевтической стоматологии. ORCID: 0000-0002-0334-8593 E-mail: a.v.vinnik@samsmu.ru

Рахимов Р.Р. – студент 4 курса Института стоматологии. ORCID: 0000-0003-1472-8492 E-mail: rahimov-rus763@mail.ru

Костионова-Овод И.А. – канд. мед. наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии. ORCID: 0000-0002-6104-3528

E-mail: i.a.kostionova-ovod@samsmu.ru

Винник С.В. – канд. мед. наук, доцент, заместитель директора Института стоматологии. ORCID: 0000-0002-7686-9891

E-mail: s.v.vinnik@samsmu.ru

Рукопись получена: 05.07.2022

Рецензия получена: 23.11.2022

Решение о публикации: 25.11.2022

■ Аннотация

Диагностика рецессии десны в силу разнообразия клинической картины, степени тяжести течения и формы причинного агента достаточно затруднена. Апикальное смещение краевой десны нарушает эстетику улыбки, вызывает дискомфорт жевательных движений и требует профессионального стоматологического вмешательства. Современные аспекты этиопатогенеза рецессии десны помогают врачу-стоматологу профессионально выявить причину и тип развития данного заболевания и оказать пациенту квалифицированную медицинскую помощь.

Статья представляет собой обзор современных литературных источников, в которых изучаются факторы, оказывающие влияние на возникновение рецессии десны. Поиск статей осуществлялся в базах данных PubMed, Google Академия и eLibrary. Языковые ограничения не применялись.

■ **Ключевые слова:** рецессия десны, апикальное смещение десны, биотип десны.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

ETIOPATHOGENESIS OF GUM RECESSON: THE CURRENT ASPECTS

Mikhail A. Postnikov, Anastasiya V. Vinnik, Ruslan R. Rakhimov, Irina A. Kostionova-Ovod, Sergei V. Vinnik

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Citation: Postnikov MA, Vinnik AV, Rakhimov RR, Kostionova-Ovod IA, Vinnik SV. **Etiopathogenesis of gum recession: the current aspects.** *Aspirantskiy vestnik Povolzhiya.* 2022;22(4):27-32. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.27-32

Information about authors

Mikhail A. Postnikov – PhD, Professor, Head of the Department of Therapeutic dentistry. ORCID: 0000-0002-2232-8870

E-mail: m.a.postnikov@samsmu.ru

Anastasiya V. Vinnik – assistant of the Department of Therapeutic dentistry. ORCID: 0000-0002-0334-8593 E-mail: a.v.vinnik@samsmu.ru

Ruslan R. Rakhimov – a 4th-year student of the Institute of Dentistry. ORCID: 0000-0003-1472-8492 E-mail: rahimov-rus763@mail.ru

Irina A. Kostionova-Ovod – PhD, assistant of the Department of Therapeutic dentistry. ORCID: 0000-0002-6104-3528

E-mail: i.a.kostionova-ovod@samsmu.ru

Sergei V. Vinnik – PhD, Associate professor, a deputy director of the Institute of Dentistry. ORCID: 0000-0002-7686-9891

E-mail: s.v.vinnik@samsmu.ru

Received: 05.07.2022

Revision Received: 23.11.2022

Accepted: 25.11.2022

■ Abstract

The gum recession is difficult to diagnose due to the diversity of the clinical picture, the severity of the course and the form of the causative agent. The apical displacement of the marginal gingiva violates the aesthetics of the smile, causes the discomfort in chewing movements and requires a professional dental intervention. The knowledge of the current aspects of the etiopathogenesis of gum recession a dentist professionally identify the cause and type of development of this disease and provide the patient with the qualified medical care.

The article presents a review of modern literature that studies the factors influencing the occurrence of gum recession. The literature search has been done in the PubMed, Google Academy and Elibrary databases without language restrictions.

■ **Keywords:** gum recession, apical gum displacement, gingival biotype.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

ВВЕДЕНИЕ

Рецессия десны, характеризующаяся невоспалительным смещением маргинального края десны апикально от его физиологической нормы, является актуальной проблемой в современной стоматологической практике [1].

На сегодняшний день все чаще стоматологические пациенты ставят на первый план вопрос эстетики. Желаемым результатом для них становится гармония улыбки в целом. Оголение корней фронтальных зубов, видимых при улыбке, затрудняет общение с окружающими, падает личностная самооценка, повышается психоэмоциональное напряжение человека [2]. К сожалению, данная патология не ограничивается проблемой эстетики, наличие рецессии характеризуется болью во время приема пищи и нарушением функции жевания.

Зачастую диагноз «рецессия десны» ставится в результате клинического обследования, а жалобы пациентов на повышенную чувствительность зубов являются следствием рецессии, помимо этого она влечет за собой формирование некариозных поражений зубов [3, 4].

В отечественной литературе апикальное смещение краевой десны обозначалось терминами «ретракция» и «атрофия». Т.Ф. Виноградова дала определение данному патологическому процессу, называя его V-образным атрофическим гингивитом [5]. Сегодня пародонтологи используют термин «рецессия десны». Х.П. Мюллер характеризовал рецессию десны как расстояние между маргинальным краем слизистой и определяемой методом зондирования глубиной образовавшегося кармана. Однако определение дна кармана фронтальных зубов с помощью зонда автор считал невозможным [6].

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ

П.А. Леус и Л.А. Казеко выявили распространенность усадка краевой десны у 15-летних детей от 9,8%, у взрослых до 99,7%, а по данным А.М. Хамадеевой, от 45,5% до 85,1%. Авторы отмечают, что интенсивность распространения рецессии десны прямо пропорциональна возрасту пациента [7, 8]. В отечественной и зарубежной литературе описывается, что доля рецессии десны составляет 5–10% от всех заболеваний пародонта, сопровождающихся потерей прикрепления слизистой оболочки. Но в последние годы данные показатели существенно растут, что связано с повышением уровня гигиены у населения [9].

КЛАССИФИКАЦИЯ

Существует несколько распространенных классификаций рецессии десны, благодаря которым практикующие врачи-стоматологи определяют интенсивность проявления патологического процесса.

П.Д. Миллер (1985) подразделяет рецессию десны на четыре класса: I – поражение незакрепленной

десны без значительного уменьшения ее объема; II – частичное поражение прикрепленной десны без уменьшения ее объема; III – поражение десны с апроксимальной стороны зуба (потеря десневых сосочков); IV – поражение десны с апроксимальной стороны зуба в сочетании с патологическим изменением положения зуба [10].

По мнению многих специалистов, в последнее время классификация рецессии десны по Миллеру имеет несоответствия с современными стоматологическими взглядами. В связи с этим были предложены более усовершенствованные системы классификаций.

Так, G. Pini-Prato (2010) предложил классифицировать рецессию десны по четырем пунктам, взяв за основу такие клинические проявления, как наличие видимого эмалево-цементного перехода и поражения корня зуба. По итогам обследования 353 пациентов с 1010 рецессиями десны определяемая эмалево-цементная граница с поражением корня наблюдалась в 144 случаях – класс 1 (14%); видимая эмалево-цементная граница без поражения корня зуба наблюдалась в 469 случаях – класс 2 (46%); неопределяемая эмалево-цементная граница с поражением корня зуба наблюдалась в 244 случаях – класс 3 (24%); неопределяемая эмалево-цементная граница без поражения корня зуба наблюдалась в 153 случаях – класс 4 (15%) [11].

В 2011 году F. Cairo предложил классификацию рецессии десны, основываясь на клиническом уровне прикрепления десны с апроксимальной стороны зуба: класс 1 – рецессия десны без потери ее прикрепления с апроксимальной стороны зуба; класс 2 – рецессия десны с апроксимальной стороны зуба менее выражена или соответствует уровню смещения маргинального края с вестибулярной стороны; класс 3 – рецессия десны с апроксимальной стороны зуба более выражена, чем оголение корня с вестибулярной стороны. Автор подтвердил теорию о том, что клинический уровень прикрепления десны с апроксимальной стороны зуба позволяет спрогнозировать успех предстоящего хирургического лечения [12].

A. G. Zucchelli и I. Mounssif (2015) доказали, что клинический межпроксимальный уровень костной ткани альвеолярного отростка является не менее информативным, поскольку отображает трофику и регенерацию будущего хирургического поля [13].

Авторы П.А. Леус и Л.А. Казеко определяют разновидность рецессии десны по клинической картине: травматическая рецессия (локализованная и генерализованная); симптоматическая рецессия (локализованная, генерализованная и системная); физиологическая рецессия (системная).

По степени проявления выделяются легкая рецессия (до 3 мм), средняя (3–5 мм) и тяжелая (6 мм и более). Также рецессия подразделяется на видимую и скрытую. Видимая рецессия соответствует расстоянию от маргинального края десны

до эмалево-цементного перехода и расстоянию между вертикальными краями рецессии по уровню эмалево-цементного перехода. Обнаружить скрытую рецессию возможно исключительно путем зондирования.

Помимо этого выделяются три типа рецессии десны в зависимости от ее поражения с апроксимальной стороны зуба: 1 тип – поражение межзубного сосочка отсутствует (возможно лечение любым методом); 2 тип – частичное поражение межзубного сосочка (ликвидация патологического процесса проводится методом аутотрансплантации свободного десневого лоскута); 3 тип – поражение слизистой соседнего зуба (используются определенные методы хирургического лечения; полное закрытие рецессии десны невозможно) [7].

ЭТИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ

Вопрос об этиологии смещения краевой десны крайне важен, особенно в практике врача-стоматолога. Прежде чем приступить к лечению рецессии десны, необходимо выявить и ликвидировать сопутствующие факторы.

Их проявление возможно в форме микробного, механического, химического раздражителя, мукогингивальных аномалий и деформаций, а также анатомических особенностей и заболеваний внутренних органов пациента.

М. Dominiak и Т. Gedrange (2014) разделяют этиологические факторы, приводящие к развитию рецессии десны, на две группы: рискообразующие (создают благоприятные условия для развития патологии) и причинные (активируют патологический процесс). К рискообразующим факторам авторы относят следующие: анатомию кости (высота и форма альвеолярного гребня, плотность костной ткани), особенности слизистой оболочки полости рта (прикрепление уздечек губ и языка, биотип десны), анатомию зубочелюстной системы (размер и форма зубов, наличие дистопии зубов), со стороны мышечной системы (расположение и объем мышечного прикрепления). К причинным факторам относят возрастные параметры пациента, заболевания систем организма, воспалительные заболевания (периостит, пародонтит, периодонтит, гингивит), нарушение окклюзионного контакта зубов, повреждение слизистой оболочки в ходе стоматологического лечения, вредные привычки [14].

МЕХАНИЧЕСКИЙ ФАКТОР

Существует мнение, что развитие рецессии десны связано с механическим повреждением слизистой во время чистки зубов. А.Е. Горвиц одним из первых в отечественной литературе упомянул о возникновении рецессии десны вследствие трения зубной щеткой [15]. Так, использование зубной щетки с жесткой щетиной и травмирующей техники чистки при тонкой слизистой вызывает травму

десны, нарушает ее трофику и сопровождается рецессией.

Д.С. Kernohan выявил хроническое повреждение слизистой оболочки нижней губы у детей, кормящихся с помощью пустышек. Травматизация мягких тканей вызвана натирающими движениями кольца пустышки во время питания [16].

Причинным фактором в образовании десневой рецессии может стать неправильное использование межзубной нити, матричной системы и системы коффердама, повреждение борами, шлифовальными и сепарационными дисками во время лечения [2, 8].

Д.А. Калвелис и Г.Ю. Пакалнс проводили морфологическое исследование о влиянии десневой борозды на ортопедическое и ортодонтическое лечение, в ходе которого подтвердили данные А.Е. Горвица о том, что апикальное смещение краевой десны происходит чаще при клиновидных дефектах. Также ими была выявлена травматизация слизистой при препарировании зубов ниже маргинальной части десны у молодых пациентов [17–19].

Проявление рецессии десны возможно в результате ортопедического лечения. Наличие воспалительного процесса у апекса корня зуба, вызванного резорбцией или перфорацией корня вследствие использования штифтов и культовых вкладок, активизирует данную патологию [20].

АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ

Л.А. Казеко выявил ретракцию десны у 15-летних подростков вследствие скученности зубов в 15,2% случаев, выступающих вестибулярно зубов – в 26% случаев [7].

Х.П. Мюллер отметил особенности тканей пародонта в области наиболее вестибулярно выступающих зубов (клыков и премоляров).

Анатомия альвеолярного отростка верхней челюсти имеет определенное строение. Тонкая кортикальная пластинка, окружающая клыки верхней челюсти, при ее повреждении наиболее подвержена нарушению трофики и потере костной ткани с последующей дегисценцией и фенестрацией. Десна при данной патологии имеет повышенную чувствительность, и даже минимальная травматизация способствует ее убыли [6].

Рецессия десны проявляется вследствие нарушения окклюзионного контакта зубов. Наличие сверхкомплектных зубов приводит к дисфункции жевательного аппарата и развитию патологий пародонта [21].

Е.А. Горбатова доказала, что развитие рецессии взаимосвязано с соотношением величин прикрепленной и свободной десны. Норма соотношения равна 5:1. Минимальная длина прикрепленной десны составляет 5 мм. При равной величине свободной и прикрепленной десны риск упадка маргинального края возрастает до 90,5%, при длине

прикрепленной десны, равной 8 мм, вероятность снижается до 27,6% [22].

МУКОГИНГИВАЛЬНЫЕ АНОМАЛИИ И ДЕФОРМАЦИИ

Спровоцировать ретракцию десны могут мукогингивальные аномалии и деформации. Мелкое преддверие полости рта, высоко прикрепленная уздечка и наличие мощных тяжей с тонкой краевой десной вызывают травматизацию мягких тканей пищевым комком с последующей атрофией [23].

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКТОР

В терапевтической стоматологии довольно часто используются агрессивные препараты, необходимые для качественного лечения. Одними из них являются мышьяковистая паста и формалин. Их неосторожное применение может спровоцировать ожог десны, нарушение кровоснабжения и атрофию мягких тканей со смещением.

МИКРОБНЫЙ ФАКТОР

Е.В. Жданов утверждал, что плохая гигиена полости рта способна спровоцировать оголение корня зуба. Наличие межзубных отложений говорит об активном размножении патогенных микроорганизмов, что сопровождается воспалительными изменениями в тканях пародонта [24].

Ортопедические и ортодонтические конструкции, не повторяющие анатомию зубочелюстного аппарата, способствуют скоплению бактерий и травматизации десны. Отмечается, что даже незначительное повреждение слизистой может сопровождаться ретракцией десны [25]. Нависающие края пломб в полостях II и V класса, по Блэку, не повторяют контактный пункт и экватор коронки зуба, что создает идеальные условия для скопления пищи [26].

Наиболее рискообразующим в ортопедическом лечении остается создание пришеечного уступа при протезировании коронками. N. Lang и R. Kiel подтвердили, что реставрация зуба с оставленным поддесневым уступом зачастую приводит к воспалению краевой десны с последующей рецессией. Правильное формирование уступа уменьшает нагрузку на круговую связку зуба при выполнении жевательной функции. При плотном прилегании края коронки к эпителиальному прикреплению создаются условия для скопления бактерий и развития хронического воспаления, что в дальнейшем сопровождается апикальным смещением маргинального края десны. Эффективной профилактикой в развитии данной патологии является создание наддесневого и придесневого расположения уступа при протезировании зуба [27, 28].

Рецессия десны является часто встречающимся осложнением ортодонтического лечения, наиболее выраженным при лечении в короткие сроки.

Брекет-система характеризуется перемещением зубов в различных направлениях. В большинстве случаев она оказывает положительное влияние, так как восстанавливает эстетику улыбки многих пациентов. Но порой применение системы вызывает атрофию альвеолярного отростка и десны. Проволочные конструкции брекет-системы затрудняют проведение тщательной гигиены полости рта, в результате чего на десне образуются скопления бактерий. Наличие микробного агента у пришеечной части зуба и тянущая сила брекет-системы в паре воздействуют на слизистую, приводя к ее убыли и развитию гингивита. Чтобы избежать возможных осложнений, перед началом ортодонтического вмешательства необходимо определить параметры прикрепленной и свободной десны. При малом объеме слизистой, окружающей фронтальную группу зубов, требуется ее увеличение непосредственно до оказания ортодонтического лечения [29].

ЗАБОЛЕВАНИЯ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ

Неблагоприятно повлиять на состояние десны могут заболевания систем организма: изменения гормональной системы, сосудистые изменения, заболевания крови, костной системы и другие. С.Д. Арутюнов выявил повышенную встречаемость пациентов с патологией пародонта при остеопорозе и остеопении. А.Е. Михайлов определил снижение репаративной функции пародонта при иммунологических нарушениях, заболеваниях сердечно-сосудистой и дыхательной систем [30].

БИОТИП

Риском возникновения десневой рецессии являются не только окружающие факторы. Сопутствующую роль в развитии данной патологии играет сам биотип десны. Десневой биотип – толщина (объем) десны, как и ширина, представляет архитектуру краевой десны. Объем десны определяется с помощью ультразвукового аппарата (Krupp SDM).

Различают толстый и тонкий десневой биотип. Тонкий биотип характеризуется объемом десны около 1 мм и менее, имеет тонкую структуру шиповатых и зернистых клеток, кровеносные сосуды с узким просветом. Заостренная к окклюзии форма альвеолярного отростка, часто узкие фронтальные зубы повышают склонность десны к рецессии. При таком биотипе требуется не только закрыть оголенные участки, но и увеличить объем тканей.

Если биотип толстый (около 1,5 мм), межзубные пространства широкие, десна (3–5 мм), слой шиповатых и зернистых клеток объемный, просвет капилляров и артериол хорошо выражен, то склонность к рецессии отсутствует [31, 32].

В случае, когда процесс десневой рецессии запущен, анатомические параметры биотипа десны направляют специалиста-стоматолога к выбору правильной методики лечения [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностика является важным этапом в борьбе с рецессией десны на сегодняшний день. Индивидуальный диагностический подход стоматолога обеспечит составление оптимального плана лечения и успешную ликвидацию патологического процесса [34].

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Cortellini P, Bissada NF. Mucogingival conditions in the natural dentition: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations. *Journal of Clinical Periodontology*. 2018;45:190-198. doi: 10.1111/jcpe.12948
- Grudyanov AI, Erokhin AI, Bezrukova IV. Technique of operations to eliminate gum recessions. *Periodontology*. 2002;1-2:12-16. (In Russ.). [Грудянов А.И., Ерохин А.И., Безрукова И.В. Техника проведения операций по устранению рецессий десны. *Пародонтология*. 2002;1-2:12-16.]
- Ulitsvskii SB, Shevtsov AV. Orthodontic patients peridontal diseases prevalence study. *Periodontology*. 2020;25(1):37-41. (In Russ.). [Улитовский С.Б., Шевцов А.В. Изучение распространенности заболеваний пародонта у ортодонтических пациентов. *Пародонтология*. 2020;25(1):37-41]. doi: 10.33925/1683-3759-2020-25-1-37-41
- Silin AV, Kirsanova EV, Medvedeva EYu, et al. The influence of excessive root inclination of molars and premolars on the development of gingival recession. *Institute of Dentistry*. 2013;4(61):76-77. (In Russ.). [Силин А.В., Кирсанова Е.В., Медведева Е.Ю., и др. Влияние избыточной инклинации моляров и премоляров на развитие рецессии десны. *Институт стоматологии*. 2013;4(61):76-77.]
- Vinogradova T, Maksimova OP, Mel'nichenko EM. Periodontal diseases and oral mucosa in children. *Medicine*. 1983;208. (In Russ.). [Виноградова Т., Максимова О.П., Мельниченко Э.М. Заболевания пародонта и слизистой оболочки полости рта у детей. *Медицина*. 1983;208.]
- Muller HP. *Parodontologiya*. L'vov, 2004;256. (In Russ.). [Мюллер Х.П. *Пародонтология*. Львов, 2004;256.]
- Leus PA, Kazeko LA. Features of clinical manifestations of gum recession. Minsk, 1993. (In Russ.). [Лейс П.А., Казеко Л.А. Особенности клинических проявлений рецессии десны. Минск, 1993.]
- Khamadeeva AM, Arkhipov VD, Trunin DA, et al. *Gum recession. Epidemiology, risk factors. Principles of treatment*. Samara, 1999. (In Russ.). [Хамадеева А.М., Архипов В.Д., Трунин Д.А., и др. *Рецессия десны. Эпидемиология, факторы риска. Принципы лечения*. Самара, 1999.]
- Zyul'kina LA, Kobrinchuk KYu, Ivanov PV. Mechanisms of solution and methods gum recession. *Modern problems of science and education*. 2017;1:54. (In Russ.). [Зюлькина Л.А., Кобринчук К.Ю., Иванов П.В. Механизмы возникновения и методы устранения рецессии десны. *Современные проблемы науки и образования*. 2017;1:54.]
- Miller PD. A classification of marginal tissue recession. *The international journal of Periodontics Restorative Dentistry*. 1998;5:8-14.
- Handelman CS, Eltink AP, BeGole E. Quantitative measures of gingival recession and the influence of gender, race, and attrition. *Progress in Orthodontics*. 2018;19(1):5. doi: 10.1186/s40510-017-0199
- Cairo F, Nieri M, Cincinelli S, et al. The interproximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: an explorative and reliability study. *Journal of Clinical Periodontology*. 2011;38:661-666. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01732.x
- Zucchelli G, Mounssif I. *Periodontal plastic surgery. Periodontology 2000*. 2015;68:333-368. doi: 10.1111/prd.12059
- Dominiak M, Gedrange T. New perspectives in the diagnostic of gingival recession. *Adv Clin Exp Med*. 2014;23:6:857-863. doi: 10.17219/acem/27907
- Shcherbakov AS, Kuznetsova MB, Vinogradova SI. Gingival recessions: etiology, pathogenesis, specialities planning of treatment and prevention. *Tver State Medical Academy*. 2014;1:119-132. (In Russ.). [Щербakov А.С., Кузнецова М.Б., Виноградова С.И. Рecessии десны: этиология, патогенез, особенности планирования лечения и профилактики. *Тверской ГМУ*. 2014;1:119-132.]
- Kalmin OV, Nikishin DV, Volodina YuM. Evaluation of the effectiveness of resorbable membrane "Bio-Gide" with chitosan of various thicknesses in combination with osteoplastic material "Bio-Oss" for the treatment of bone defects. *News of Volga region universities. Medical sciences. Theoretical and experimental medicine*. 2014;2:34-47. (In Russ.). [Калмин О.В., Никишин Д.В., Володина Ю.М. Оценка эффективности применения резорбируемой мембраны «Bio-Gide» с хитозаном различной толщины в сочетании с остеопластическим материалом «Bio-Oss» для лечения дефектов костной ткани. *Известия вузов Поволжья. Медицинские науки. Теоретическая и экспериментальная медицина*. 2014;2:34-47.]
- Bragin EA. Tactics of dental preservation during prosthetics with fixed dentures. *Dentistry*. 2003;4:44-47. (In Russ.). [Тактика зубодесневого сохранения при протезировании несъемными зубными протезами. *Стоматология*. 2003;4:44-47.]
- Serov AB. Development of methods for the prevention of the development of chronic localized periodontitis during prosthetics with fixed prostheses. *Medical sciences. Dentistry* 2009;117. (In Russ.). [Серов А.Б. Разработка методов профилактики развития хронических локализованных пародонтитов при протезировании несъемными протезами. *Медицинские науки. Стоматология*. 2009;117.]
- Mahajan KS, Asi D, Rayast A, et al. Decision-making in classifying gingival recession defects – A systematic review. *National Journal of Maxillofacial Surgery*. 2019;10(2):206-211. doi: 10.4103/njms.NJMS_71_18
- Al-Akhali MS. Successful Management of Khat Chewing-induced Gingival Recession by Using Tunnel Technique Utilizing Subepithelial Connective Tissue Graft: A Case report. *J Contemp Dent Pract*. 2019;20(10):1235-1238. doi: 10.5005/jp-journals-10024-2659
- Fischer KR, Künzberger A, Donos N, et al. Gingival biotype revisited-novel classification and assessment tool. *Clin Oral Invest*. 2018;22(1):443-448. doi: 10.1007/s00784-017-2131-1
- Gorbatova EA. Topographic features of the gum divisions. *Periodontology*. 2003;4:19-20. (In Russ.). [Горбатова Е.А. Топографические особенности отделов десны. *Пародонтология*. 2003;4:19-20.]
- Cortellini P, Bissada NF. Mucogingival conditions in natural dentition: narrative review, case definitions and diagnostic considerations. *Periodontology*. 2018;89(1):204-213. doi: 10.1002/JPER.16-0671
- Zhdanov EV, Fevraleva AE, Savich OV. The influence of etiological factors of the development of recessions on the choice of tactics and the results of surgical treatment. *New in dentistry*. 2005;5:46-55. (In Russ.). [Жданов Е.В., Февралева А.Е., Савич О.В. Влияние этиологических факторов развития рецессий на выбор тактики и результаты хирургического лечения. *Новое в стоматологии*. 2005;5:46-55.]
- Zyul'kina LA, Kobrinchuk KYu, Ivanov PV, et al. Mechanisms of occurrence and methods of elimination of gum recession.

- Modern problems of science and education*. 2017;1:54. (In Russ.). [Зюлькина Л.А., Кобринчук К.Ю., Иванов П.В., и др. Механизмы возникновения и методы устранения рецессии десны. *Современные проблемы науки и образования* 2017;1:54].
26. Grigor'ev SS, Efremov NV. Features of gingival margin retraction in patients with a thin alveolar ridge and a thin tissue biotype. *Problems of dentistry*. 2013;4:24-26. (In Russ.). [Григорьев С.С., Ефремов Н.В. Особенности ретракции десневого края у пациентов с тонким альвеолярным гребнем и тонким биотипом тканей. *Проблемы стоматологии*. 2013;4:24-26].
 27. Al'-Khadzh ON, Trezubov VN. Side effect of non-removable dentures on the marginal periodontal. *Periodontology*. 2001;1-2:6. (In Russ.). [Аль-Хадж О.Н., Трезубов В.Н. Побочное действие несъемных протезов на краевой пародонт. *Пародонтология*. 2001;1-2:6].
 28. Vol'f GF, Rateitskhak EM, Rateitskhak K. *Periodontology*. Trans. from German; Ed. by Prof. Barera GM. M., 2008;548. (In Russ.). [Вольф Г.Ф., Ратейцхак Э.М., Ратейцхак К. *Пародонтология*. Пер. с нем. Под ред. проф. Барера Г.М. М., 2008;548].
 29. Wikesjo U, Wikesjo E, Nilveus R. Periodontal repair in dogs: effect of wound stabilization on healing. *Journal of Periodontology*. 1999;161:719-724.
 30. Mikhailov AE, Kuznetsova NL, Blokhina SI. Features of concomitant pathology in patients with chronic generalized periodontitis. *Clinical dentistry*. 2009;2:34-37. (In Russ.). [Михайлов А.Е., Кузнецова Н.Л., Блохина С.И. Особенности сопутствующей патологии у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. *Клиническая стоматология*. 2009;2:34-37].
 31. Dmitrieva LA, et al. *Modern aspects of clinical periodontology*. Ed. by L.A. Dmitrieva. M., 2001;127. (In Russ.). [Дмитриева Л.А., и др. *Современные аспекты клинической пародонтологии*. М., 2001;127].
 32. Sarkisian VM, Zairatians OV, Panin AM, et al. Morphological features of gums of different biotypes. *Periodontology*. 2012;17:1:26-29. (In Russ.). [Саркисян В.М., Зайратьянц О.В., Панин А.М., и др. Морфологические особенности десны разных биотипов. *Пародонтология*. 2012;17:1:26-29].
 33. Nosova MA, Volova LT, Sharov AN, et al. Surgical treatment of multiple gum recessions with combined use of autograft and allogeneic lyophilized dura mater: a clinical case. *Periodontology*. 2021;26(2):125-136. (In Russ.). [Носова М.А., Волова Л.Т., Шаров А.Н., и др. Хирургическое лечение множественных рецессий десны с комбинированным применением аутографта и аллогенной лиофилизированной dura mater: клинический случай. *Пародонтология*. 2021;26(2):125-136]. doi: [10.33925/1683-3759-2021-26-2-125-136](https://doi.org/10.33925/1683-3759-2021-26-2-125-136)
 34. Postnikov MA, Lyamin AV, Tkach TM, et al. *Optimization of the diagnosis of periodontal diseases when using a tool for collecting the contents of the periodontal pocket for the purpose of microbiological examination*. Samara, 2020. (In Russ.). [Постников М.А., Лямин А.В., Ткач Т.М., и др. *Оптимизация диагностики заболеваний пародонта при использовании инструмента для забора содержимого пародонтального кармана с целью микробиологического исследования*. Самара, 2020]. doi: [10.25694/URMJ.2020.10.15](https://doi.org/10.25694/URMJ.2020.10.15)

■ Автор для переписки

Постников Михаил Александрович
Адрес: Самарский государственный медицинский университет,
ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

■ Corresponding Author

Mikhail A. Postnikov
Address: Samara State Medical University,
89 Chapayevskaya st., Samara, Russia, 443099.

E-mail: m.a.postnikov@samsmu.ru

3.4.2. ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ, ФАРМАКОГНОЗИЯ/ PHARMACEUTICAL CHEMISTRY, PHARMACOGNOSY

УДК 615.225.4:543.857

DOI: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.33-39

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ АНАЛИЗА КЛОПИДОГРЕЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЭЖХ И ЕЕ ВАЛИДАЦИЯ

Л.С. Аносова¹, И.П. Ремезова², А.М. Агафонов¹

¹ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава ДНР (Донецк, Россия)

²Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России (Пятигорск, Россия)

Для цитирования: Аносова Л.С., Ремезова И.П., Агафонов А.М. Разработка методики анализа клопидогрела с использованием ВЭЖХ и ее валидация. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):33-39. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.33-39

■ Сведения об авторах

Аносова Л.С. – ассистент кафедры фармацевтической и медицинской химии. ORCID: 0000-0002-9380-4619

E-mail: apteka-NaNya@yandex.ru

Ремезова И.П. – д-р фарм. наук, профессор кафедры токсикологической и аналитической химии. ORCID: 0000-0003-3456-8553

E-mail: i.p.remezova@pmedpharm.ru

Агафонов А.М. – ассистент кафедры фармацевтической и медицинской химии. ORCID: 0000-0002-0682-1366 E-mail: Chuh2008@yandex.ru

Рукопись получена: 25.09.2022

Рецензия получена: 02.11.2022

Решение о публикации: 11.11.2022

■ Аннотация

Цель – разработать методику анализа клопидогрела с использованием ВЭЖХ для целей химико-токсикологического анализа.

Материал и методы. Объекты исследования – клопидогрель бисульфат субстанция-порошок, производитель: ЧАО «Фармак», Украина, соответствует Европейской фармакопее с содержанием действующего вещества 99,31% (серия LM2504208). Хроматографический анализ был проведен на микроколоночном жидкостном хроматографе «Миличром А-02» (ЗАО «Эконова», Россия) по унифицированной методике, разработанной Г.И. Барамом.

Результаты. Наиболее высокое спектральное отношение методом ВЭЖХ наблюдается при 280 нм / 210 нм (максимальная площадь пика клопидогрела $R = 1,0787$). Калибровочный график описывался уравнением: $y = 0,0005912 \cdot x - 0,001385$ ($r = 0,9998$; $S_{02} = 25,29 \cdot 10^{-7}$); линейность в пределах 1–400 мкг/мл, что соответствует содержанию клопидогрела в пробе от 2 нг до 800 нг соответственно. На основании величин калибровочной прямой было рассчитано значение LOD и LOQ, они составляли 2,334 мкг/мл и 7,074 мкг/мл соответственно.

Выводы. Разработана методика количественного определения клопидогрела методом ВЭЖХ, которая позволяет определять его в смеси. Проведена валидация методики по показателям: специфичность, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность, правильность и прецизионность.

■ **Ключевые слова:** клопидогрел, методика анализа, ВЭЖХ, валидация.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

■ Список сокращений

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ВЭЖХ-УФ – высокоэффективная жидкостная хроматография со спектрофотометрическим детектированием по абсорбции в ультрафиолетовой области спектра; ВЭЖХ-МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрией; РСО – раствор стандартного образца.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A METHODOLOGY FOR HPLC ANALYSIS OF CLOPIDOGREL

Lyudmila S. Anosova¹, Irina P. Remezova², Aleksei M. Agafonov¹

¹Donetsk National Medical University named after M. Gorky (Donetsk, Russia)

²Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)

Citation: Anosova LS, Remezova IP, Agafonov AM. Development and validation of a methodology for HPLC analysis of clopidogrel. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2022;22(4):33-39. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.33-39

■ Information about authors

Lyudmila S. Anosova – assistant of the Department of Pharmaceutical and medical chemistry. ORCID: 0000-0002-9380-4619

E-mail: apteka-NaNya@yandex.ru

Irina P. Remezova – PhD, Professor, Department of Toxicological and analytical chemistry. ORCID: 0000-0003-3456-8553

E-mail: i.p.remezova@pmedpharm.ru

Aleksei M. Agafonov – assistant of the Department of Pharmaceutical and medical chemistry. ORCID: 0000-0002-0682-1366

E-mail: Chuh2008@yandex.ru

Received: 25.09.2022

Revision Received: 02.11.2022

Accepted: 11.11.2022

■ Abstract

Aim – to develop a methodology for the chemical and toxicological analysis of clopidogrel using HPLC.

Material and methods. The study was performed on Clopidogrel bisulfate substance-powder, manufacturer: PJSC "Farmak", Ukraine, corresponding to the European Pharmacopoeia with an active substance content of 99.31% (LM2504208 series). For the chromatographic analysis we used a micro-column liquid chromatograph "Milichrome A-02" (CJSC "Econova", Russia). The analysis was done according to the unified HPLC technique developed by G.I. Baram.

Results. The highest spectral ratio by HPLC was observed at 280 nm / 210 nm (maximum clopidogrel peak area $R = 1.0787$). The calibration curve for the HPLC method was described by the equation: $y = 0.0005912 \cdot x - 0.001385$ ($r = 0.9998$; $S_{02} = 25.29 \cdot 10^{-7}$); linearity within 1–400 mcg/ml, which corresponded to the content of clopidogrel in the sample from 2 ng to 800 ng, respectively. Based on the values of the calibration curve, the LOD and LOQ were calculated: 2,334 mcg/ml and 7,074 mcg/ml, respectively.

Conclusion. A technique for the quantitative determination of clopidogrel by HPLC has been developed that allows for determining the substance in a mixture. The methodology was validated according to the following criteria: specificity, limit of detection, limit of quantitative determination, linearity, correctness and precision.

■ **Keywords:** clopidogrel, method of analysis, HPLC, validation.

■ **Conflict of interest:** *nothing to disclose.*

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания сердечно-сосудистой системы (ССЗ) (острый коронарный синдром, ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака, заболевания периферических артерий и др.) являются масштабной проблемой XXI века [1, 2]. Более 50% населения Российской Федерации имеет патологию сердечно-сосудистой системы, которая влечет за собой смертельный исход [3, 4].

Наиболее актуальным и требующим особого внимания остается вопрос ишемической болезни сердца (ИБС). ИБС является ведущей причиной смертности в РФ и ряде других стран с 2002 года, а доля этого заболевания в общей смертности с каждым годом растет [5, 6, 7]. Согласно прогнозу ВОЗ, показатели смертности от ССЗ будут продолжать увеличиваться во всем мире [8]. В России высокий уровень смертности от ССЗ связан прежде всего с низким уровнем обращаемости больных в лечебные учреждения, особенно лиц пожилого и старческого возраста с ССЗ в анамнезе [9, 10].

ССЗ требуют медикаментозной коррекции. Клопидогрел – представитель антитромбоцитарных (антиагрегантных) средств, который эффективно применяется в комплексном лечении ССЗ и является препаратом антитромбоцитарной терапии для лечения больных COVID-19 по рекомендациям Российского кардиологического общества (РКО) и Европейского общества кардиологов [11].

В условиях сильных ограничений во время пандемии COVID-19 ухудшилось психоэмоциональное состояние людей, появилась тревожность, хронический стресс, депрессия [12]. Эпидемиологическая обстановка и психическое состояние привели к повышению уровня самоубийств. В качестве препарата для самоубийства неоднократно применялся именно клопидогрел [13]. По информации, приведенной в научной литературе за последние 10 лет, клопидогрел представляет интерес с точки зрения химико-токсикологических исследований, поскольку передозировка данным препаратом и смертельные случаи при его приеме встречаются достаточно часто [14–17]. Связано это в первую очередь

с обострением основного заболевания у пациентов при неверном подборе препарата или вследствие резистентности к нему организма. Но также нередко случаи суицидов, совершенных посредством применения клопидогрела. При этом встречаются как моно-, так и поливалентные отравления [11, 18].

Развитие аналитической службы в направлениях проведения мониторинга эффективности лечения населения средствами, влияющими на свертывание крови и агрегацию тромбоцитов, и диагностики интоксикаций при применении этих лекарств базируется на разработке эффективных и экспрессных методик анализа препаратов в биологических объектах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Среди современных методов анализа для создания баз параметров идентификации и разделения массивов исследуемых веществ в биологических объектах ВЭЖХ-метод является одним из наиболее подходящих методов с высокой чувствительностью и селективностью.

ЦЕЛЬ

Разработка методики анализа клопидогрела с использованием ВЭЖХ для химико-токсикологического анализа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – клопидогрель бисульфат (далее клопидогрел) – субстанция-порошок, производитель ЧАО «Фармак», Украина, соответствует Европейской фармакопее с содержанием действующего вещества 99,31% (серия LM2504208).

Реактивы соответствовали квалификации ЧДА: кислота хлористоводородная (37%) (Chimmed, Москва, Россия).

Аналитическое оборудование: хроматографический анализ был проведен на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром А-02» (ЗАО «Эконова», Россия), по унифицированной ВЭЖХ-методике, разработанной Г.И. Барамом [19].

Условия хроматографирования: колонка размером 2x75 мм с обращенной фазой C18 (ProntoSIL – 120

– 5 – C18 AQ (Bischoff Analystechnik und Geräte GmbH, Германия); градиентное элюирование выполняется смешиванием двух элюентов: элюент А – [4 М LiClO_4 – 0,1 М HClO_4] – H_2O (5:95); элюент Б – ацетонитрил для ВЭЖХ; скорость подачи подвижной фазы – 100 мкл/мин; температура термостата колонки – 40°C; объем вводимой пробы – 2 мкл. Детектирование проводили при восьми длинах волн: 210, 220, 230, 250, 260, 270, 280 и 300 нм.

Обработку хроматограмм и расчет V_R и S_λ / S_{210} проводили с использованием компьютерной программы "МультиХром-СПЕКТР", версия 2.4 (ЗАО «Амперсенд»).

Приготовление элюента А. 0,2 М раствор литий перхлората в 0,005 М растворе кислоты хлороводородной готовили с использованием раствора 1 и раствора 2.

Раствор 1 (4,1 М водный раствор литий перхлората) получали растворением 330 г $\text{LiClO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ в 450 мл бидистиллированной воде при перемешивании и нагреве до 50°C. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры и доводили бидистиллированной водой до 500 мл. Раствор фильтровали сквозь мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Раствор 2 (4 М водный раствор LiClO_4 в 0,1 М HClO_4) готовили разведением 2,2 мл кислоты хлороводородной до объема 250 мл раствором 1.

Элюент А готовили разведением 10 мл раствора 2 до 200 мл бидистиллированной водой.

Приготовление раствора растворителя: в мерную колбу вместимостью 1000,0 мл вносили 500,00 мл 0,01 М раствора кислоты хлороводородной и доводили объем раствора водой очищенной до метки.

Приготовление стандартных растворов клопидогрела. 0,1000 г вещества вносили в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяли в 10,00 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и доводили объем раствора водой очищенной до метки (стандартный раствор 1, концентрация 1000 мкг/мл).

В мерную колбу вместимостью 100,0 мл вносили 50,00 мл стандартного раствора 1 и доводили объем

раствора водой очищенной до метки (стандартный раствор 2, концентрация 500 мкг/мл).

В мерную колбу вместимостью 100,0 мл вносили 20,00 мл стандартного раствора 2 и доводили объем раствора до метки растворителем (раствор 3, концентрация 100 мкг/мл).

В мерную колбу вместимостью 100,0 мл вносили 10,00 мл раствора 3 и доводили объем раствора до метки растворителем (раствор 4, концентрация 10 мкг/мл).

В две мерные колбы вместимостью 100,0 мл вносили по 10,00 и 5,00 мл раствора 4 соответственно и доводили объемы растворов до метки растворителем (растворы 5 и 6 соответственно; концентрация 1 и 0,5 мкг/мл).

Растворы клопидогрела 3, 4, 5 и 6 хроматографировали при вышеуказанных условиях. Предварительно проводили хроматографирование растворителя.

Для построения калибровочного графика для количественного определения клопидогрела методом ВЭЖХ готовили стандартный раствор клопидогрела в смеси 0,01 М раствора кислоты хлороводородной и воды (1:1).

0,1000 г клопидогрела вносили в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяли в 10,00 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и доводили объем раствора водой очищенной до метки (стандартный раствор 1, концентрация 1000 мкг/мл).

В мерную колбу вместимостью 100,0 мл вносили 50,00 мл стандартного раствора 1 и доводили объем раствора водой очищенной до метки (стандартный раствор 2, концентрация 500 мкг/мл).

В три мерные колбы вместимостью 50,0 мл вносили 40,00; 20,00 и с 10,00 мл стандартного раствора 2 соответственно и доводили объемы растворов до метки растворителем (растворы 3, 4 и 5 соответственно, концентрация 400, 200 и 100 мкг/мл соответственно).

В мерную колбу вместимостью 100,0 мл вносили 10,00 мл стандартного раствора 2 и доводили объем раствора до метки растворителем (раствор 6, концентрация 50 мкг/мл).

В мерную колбу вместимостью 100,0 мл вносили 10,00 мл раствора 5 и доводили объем раствора до метки растворителем (раствор 7, концентрация 10 мкг/мл). В мерную колбу вместимостью 100,0 мл вносили 10,00 мл раствора 7 и доводили объем раствора до метки растворителем (раствор 8, концентрация 1 мкг/мл).

Растворы клопидогрела 3, 4, 5, 6, 7 и 8 хроматографировали при вышеупомянутых условиях (**рисунок 1**). Хроматографию каждого раствора проводили трижды. По результатам эксперимента строили калибровочный график при длине волны 280 нм (**рисунок 2**). Для введения раствора препарата в хроматограф использовали автоматический пробозаборник, вводящий

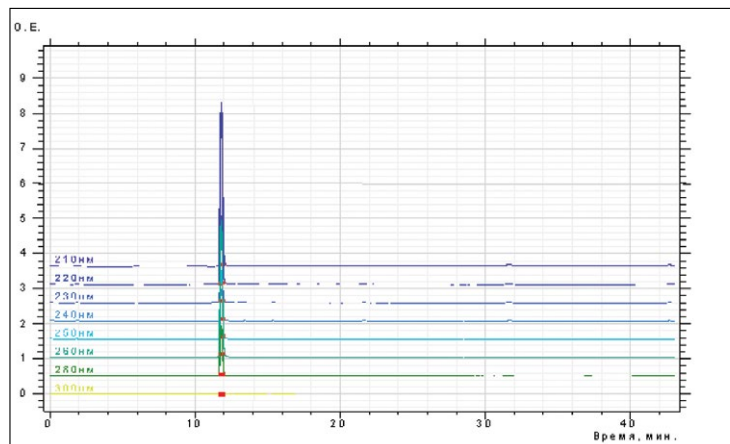


Рисунок 1. Хроматограмма клопидогрела (концентрация 10 мкг/мл).

Figure 1. Chromatogram of clopidogrel (concentration 10 µg/ml).

Таблица 1 / Table 1

Результаты определения основных хроматографических параметров
Results of determination of the main chromatographic parameters

Параметр		Значение параметра	Метрологические характеристики (n=3, P =0,95)					
			$\bar{X}$	SD	RSD, ±%	S_x	$\Delta\bar{X}$	$\varepsilon, \pm\%$
Время удерживания (tR), мин		13,741	13,738	0,048	0,35	0,2073	0,89	1,16
		13,784						
		13,689						
Спектральное соотношение ($R = S_{\lambda} / S_{210}$)	210 нм / 210 нм	1,0000	1,0000	0	0	0	0	0
		1,0000						
		1,0000						
	220 нм / 210 нм	0,9831	0,9741	0,009	0,93	0,2203	0,95	9,7
		0,9742						
		0,9649						
	230 нм / 210 нм	0,6383	0,6483	0,009	1,36	0,2073	0,9	1,37
		0,6517						
		0,6549						
	240 нм / 210 нм	0,2167	0,2203	0,004	1,79	0,1884	0,81	3,67
		0,2196						
		0,2245						
	250 нм / 210 нм	0,2058	0,2044	0,005	2,54	0,2203	0,95	4,63
		0,1986						
		0,2087						
	260 нм / 210 нм	0,2801	0,2811	0,006	2,07	0,2074	0,89	3,17
		0,2873						
		0,2758						
	280 нм / 210 нм	1,0756	1,0787	0,003	0,28	0,1884	0,81	1,05
		1,0789						
		1,0817						
	300 нм / 210 нм	0,6231	0,6248	0,005	0,76	0,2203	0,95	1,51
		0,6211						
		0,6301						

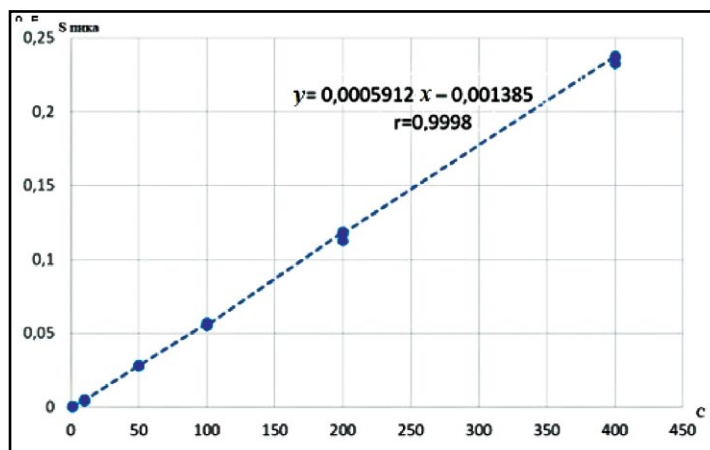


Рисунок 2. Калибровочный график количественного определения клопидогрела методом ВЭЖХ ($\lambda=280$ нм, объем пробы 2 мкл).

Figure 2. A calibration curve of the quantitative determination of clopidogrel by HPLC ($\lambda=280$ nm, sample volume 2 μ l).

в хроматограф 2 мкл исследуемого раствора. Для работы использовали мерную посуду класса А (первого класса) и вспомогательные вещества, которые отвечали требованиям Государственной фармакопеи РФ XIV издания [20].

Перед проведением испытаний проводили проверку пригодности хроматографической системы: относительное стандартное отклонение для площадей пиков клопидогрела должно быть не более 5,0%; коэффициент асимметрии для пиков должен быть не более 2.

Специфичность методики оценивали по появлению одного пика, соответствующему клопидогрелу на хроматограмме. Идентификацию клопидогрела проводили по времени удерживания (tR) и по спектральным характеристикам – отношение площадей пиков при длинах волн $\lambda_2-\lambda_8$ к площади пика при длине волны $\lambda_1=210$ нм ($R = S_{\lambda} / S_{210}$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты приведены на рисунке 1. Значения tR, которые используются для идентификации пика вещества на хроматограмме, приведены в таблице 1.

Как видно из полученных данных, время удерживания пика клопидогрела составляет около 13,74 мин.

Минимальная концентрация клопидогрела в растворе, которую можно определить с помощью приведенной методики, составляет 1 мкг/мл, что соответствует содержанию вещества в пробе 2 нг.

Наиболее высокое спектральное отношение 280 нм / 210 нм (максимальная площадь пика клопидогрела $R = 1,0787$), что и было использовано для дальнейшего количественного определения клопидогрела.

Количественное определение клопидогрела методом ВЭЖХ-УФ проводили при $\lambda = 280$ нм, что соответствовало области максимального специфического светопоглощения клопидогрела в УФ – области спектра, применяя при этом метод абсолютной калибровки. Результат приведен в таблице 2.

По полученным результатам, приведенным в таблице 2, строили калибровочный график (рисунок 2). Результаты свидетельствуют, что линейная зависимость при количественном определении исследуемого вещества методом ВЭЖХ наблюдается в пределах концентраций от 1 до 400 мкг/мл.

Методика количественного определения линейна в пределах 1–400 мкг/мл,

Таблица 2 / Table 2

Зависимость площади пика растворов клопидогрела от концентрации его растворов ($\lambda = 280$ нм; объем пробы 2 мкл)

The dependence of the peak area of clopidogrel solutions on the concentration of its solutions ($\lambda = 280$ nm; sample volume 2 μ l)

Концентрация раствора клопидогрела, мкг/мл	Площадь пика		
	S_i	$\bar{S}$	RSD, $\pm\%$
1,0	0,0004330	0,0004388	2,20
	0,0004500		
	0,0004330		
	0,0004330		
10,0	0,004897	0,004753	4,06
	0,004533		
	0,004827		
	0,004827		
50,0	0,02805	0,02810	0,31
	0,02820		
	0,02805		
	0,02805		
100,0	0,05682	0,05635	1,35
	0,05675		
	0,05547		
	0,05547		
200,0	0,1184	0,1162	2,57
	0,1128		
	0,1174		
	0,1174		
400,0	0,2374	0,2358	1,09
	0,2328		
	0,2371		
	0,2371		

что соответствует содержанию клопидогрела в пробе от 2 нг до 800 нг соответственно. На основании величин калибровочной прямой было рассчитано значение LOD и LOQ с использованием стандартного отклонения перехвата (S_a) в соответствии со следующими уравнениями [21]:

$$LOD = 3,3 \cdot \frac{S_a^2}{b}$$

$$LOQ = 10 \cdot \frac{S_a^2}{b}$$

Они составляли 2,334 мкг/мл и 7,074 мкг/мл соответственно.

Оценка правильности метода определялась при трех уровнях концентрации (таблица 3) [21]. Для этого нами были выбраны: нижний уровень концентраций – 10,0 мкг/мл; средний – 200,0 мкг/мл и высокий – 400,0 мкг/мл.

Полученные данные свидетельствуют о том, что значения, принимаемые за истинные, находятся внутри доверительного интервала среднего результата анализа, полученного экспериментально.

По результатам метрологических характеристик проведена проверка наличия значимой системной погрешности [21]. В результате расчета установлено, что критерий Стьюдента составил $t=1,57$, что не превышает табличного значения $1,57 < 2,776$, поэтому

Таблица 3 / Table 3

Оценка правильности методики определения клопидогрела с помощью унифицированной ВЭЖХ методики

An assessment of the correctness of the methodology for determining clopidogrel using the unified HPLC methodology

Уровень	Внесено мкг/мл	Найдено клопидогреля		Метрологическая характеристика
		Мкг/мл	R, %	
1	10,0	10,11	101,10	$\bar{X}=99,69$ $SD=2,93$ $RSD=\pm 2,94\%$ $\Delta\bar{X}=1,31$ $\epsilon=\pm 1,31\%$
		9,98	99,80	
		10,01	100,10	
2	200,0	194,6	97,30	
		200,1	100,05	
		200,4	100,20	
3	400,0	400,1	100,02	
		398,4	99,60	
		396,2	99,05	

можно сделать вывод об отсутствии систематической ошибки.

Определение прецизионности проводили на концентрации раствора 100 мкг/мл (таблица 4).

Так как RSD не превышает допустимых норм, предлагаемая методика является прецизионной. Из приведенных данных мы видим, что разработанная методика отвечает всем валидационным требованиям и может быть использована для целей химико-токсикологического анализа клопидогрела.

Литературные данные свидетельствуют о том, что метод ВЭЖХ очень часто используется как для анализа лекарственных веществ в лекарственных формах, так и для их анализа в биологических жидкостях, а также для изучения фармакокинетики. Так, ВЭЖХ-методика предлагалась для анализа клопидогрела в таблетках [22–24], для определения примесей в лекарственных формах клопидогрела [25–27], для определения клопидогрела в плазме крови и моче с помощью методов ВЭЖХ [27, 28], ВЭЖХ-МС [29]. Идентификация и количественное определение исследуемого лекарственного средства в лекарственных формах методом ВЭЖХ были проведены в различных условиях хроматографирования.

Предложенные методики анализа клопидогрела методом ВЭЖХ имеют недостатки. Использование изократического режима элюирования ограничивает возможность выхода всех компонентов образца из колонки в узких зонах и эффективное распределение смесей лекарственных препаратов. Применение нелинейного градиента при элюировании клопидогрела усложняет процесс хроматографии. Определение лекарственного вещества при одной длине волны снижает достоверность результатов, полученных при идентификации, поскольку позволяет использовать только параметры удерживания без учета спектральных соотношений.

Таким образом, современные методики анализа клопидогрела с помощью ВЭЖХ указывают

Таблица 4 / Table 4

Оценка прецизионности определения клопидогрела методом ВЭЖХ

The evaluation of the precision of clopidogrel determination by HPLC

Внесено, мкг/мл	Площадь пика, отн. ед.	Результат, мкг	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	Метрологическая характеристика (n = 6; P = 0,95)
100	0,05747	100,7	0,43	0,1849	$\bar{X} = 100,27$ $SD = 1,22$ $RSD = \pm 1,22\%$
	0,05743	99,7	-0,57	0,3249	
	0,05749	101,0	0,73	0,5329	
	0,05745	100,3	0,07	0,0009	
	0,05741	99,6	-0,67	0,4489	
	0,05745	100,3	0,07	0,0009	

на отсутствие систематических исследований, что не позволяет использовать их для целей химико-токсикологического анализа.

Градиентное элюирование смесями растворителей в нашем методе представляет собой линейный градиент от элюента А (5% ацетонитрил) и 95% буфер) до элюента В (100% ацетонитрил). Метод само-го быстрого режима обеспечивал уменьшение полярности элюента с добавлением менее полярного растворителя (ацетонитрила) и снижение удерживания компонентов, тем самым создавая условия для выхода из колонки всех компонентов образца в виде узких зон. Термостат колонки твердотельного типа с электронагревателем обеспечивал оптимальные условия хроматографии и воспроизводимость результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика количественного определения клопидогрела методом ВЭЖХ, которая позволяет определять его в смеси. Проведена валидация методики по показателям: специфичность, предел обнаружения, предел количественного определения, линейность, правильность и прецизионность.

Сравнительная оценка спектральных соотношений позволяет получать более надежные и воспроизводимые результаты, а также идентифицировать препараты с близкими значениями параметров удерживания.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Glushchenko VA, Irkliencko EK. Cardiovascular morbidity – one of the most vital problems of modern health care. *Medicine and health care organization*. 2019;4(1):56-63. (In Russ.). [Глушченко В.А., Иркиенко Е.К. Сердечно-сосудистая заболеваемость – одна из важнейших проблем здравоохранения. *Медицина и организация здравоохранения*. 2019;4(1):56-63].
2. Kondratieva YuV, Moiseeva KE, Alekseeva AV, et al. Medical and social problems of health of rural school children. *Medicine and health care organization*. 2018;3(4):9-15. (In Russ.). [Кондратьева Ю.В., Моисее-

ва К.Е., Алексеева А.В., и др. Медико-социальные проблемы состояния здоровья сельских школьников. *Медицина и организация здравоохранения*. 2018;3(4):9-15].

3. Alikhanova KA, Omarkulov BK, Abugaliev TO, et al. Results of sociological surveys population of the Karaganda region about the risk factors of stroke. *Fundamental Research*. 2013;9:804-809. (In Russ.). [Алиханова К.А., Омаркулов Б.К., Аbugалиева Т.О., и др. Изучение распространенности заболеваний сердечно-сосудистой системы среди населения Карагандинской области. *Фундаментальные исследования*. 2013;9:804-809].
4. Alekseenko SN, Drobot EN. *Prevention of diseases*. (In Russ.). [Алексеев С.Н., Дробот Е.Н. Профилактика заболеваний]. Available at: <https://monographies.ru/ru/book/section?id=9649>
5. Shal'nova SA, Deev AD. Coronary heart disease in Russia: incidence rate and treatment (according to epidemiological data). *Terapevticheskii arkhiv*. 2011;83(1):7-12. (In Russ.). [Шальнова С.А., Деев А.Д. Ишемическая болезнь сердца в России: распространенность и лечение (по данным клинко-эпидемиологических исследований). *Терапевтический архив*. 2011;83(1):7-12].
6. Ishihara M, Fujino M, Ogawa H. Clinical Presentation, Management and Outcome of Japanese Patients With Acute Myocardial Infarction in the Troponin Era – Japanese Registry of Acute Myocardial Infarction Diagnosed by Universal Definition (JMINUET). *Circulation Journal*. 2015;79(6):1255-1262.
7. Davletov KK, Berkinbayev SF, Amirov BB, et al. Standardization of morbidity and mortality rates as a predicate for correct inter-regional comparisons. *Medicine (Almaty)*. 2015;6:2-5. (In Russ.). [Давлетов К.К., Беркинбаев С.Ф., Амиров Б.Б., и др. Стандартизация показателей заболеваемости и смертности как основа для корректного сравнения разных регионов. *Медицина (Алматы)*. 2015;6:2-5].
8. Romanova MM, Babkin AP, Zuykova AA. Comparative analysis of the incidence of cardiovascular pathology in the therapeutic areas in an urban and a rural clinic. *International journal of applied and fundamental research*. 2017;4:368-371. (In Russ.). [Романова М.М., Бабкин А.П., Зуйкова А.А. Сравнительный анализ заболеваемости сердечно-сосудистой патологией на терапевтических участках в городской и сельской поликлинике. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017;4:368-371].
9. *The incidence of the population of Russia 2000–2011 (statistical materials)*. М., 2013. (In Russ.). [Заболеваемость населения России 2000–2011 (статистические материалы). М., 2013]. Available at: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/publications/catalog/doc1139919134734
10. *Healthcare in Russia. Russian statistical yearbook*. М., 2013. (In Russ.). [Здравоохранение в России. Статистический сборник. М., 2013].
11. Anosova LS. Development of conditions for analytical diagnosis of poisoning with clopidogrel. *Farmatsiya*. 2022;71(6):12-18. (In Russ.). [Аносова Л.С. Разработка условий аналитической диагностики отравлений клопидогрелом. *Фармация*. 2022;71(6):12-18]. doi: 10.29296/25419218-2022-06-02
12. Kochetova YuA, Klimakova MV. Psychological State Researches in the Context of the COVID-19 Pandemic [E-journal]. *Journal of Modern Foreign Psychology*. 2021;10(1):48-56. (In Russ.). [Кочетова Ю.А., Климакова М.В. Исследования психического состояния людей в условиях пандемии COVID-19. *Современная психология*.

- бежная психология. 2021;10(1):48-56]. doi: 10.17759/jmfp.2021100105
13. Number of suicide attempts in Colombia as of May 2021, by department. Available at: <https://www.statista.com/statistics/1113062/colombia-number-suicide-attempts-department/>
 14. Borderías Clau L, Garrapiz López J, Caballero G. Pulmonary haemorrhage and haemothorax after massive ingestion of clopidogrel as a suicide attempt. *Arch Bronconeumol*. 2009;45(11):570-1. doi: 10.1016/j.arbres.2009.06.009
 15. Arslan E. Massive Ingestion of Clopidogrel in a Suicidal Attempt: A Case Report and Review of Literature İntihar Amaçlı Aşırı Doz Clopidogrel Alımı: Olgu Sunumu ve Literatürün Gözden Geçirilmesi. *JAEM*. 2013;12:167-9. doi: 10.5152 /JAEM.2013.046
 16. Fukusako T, et al. Case of thrombotic thrombocytopenic purpura associated with clopidogrel. *Rinsho Shinkeigaku*. 2007;47(10):635-638.
 17. Kocabay G, Okçular I, Akkaya V, Güler K. Suicide attempt with clopidogrel. *Hum Exp Toxicol*. 2006;25(12):731-734.
 18. Anosova LS. The distribution of clopidogrel in the organs of poisoned animals. *Farmaciya*. 2021;70(6):31-36. (In Russ.). [Аносова Л.С. Распределение клопидогрела в органах отравленных животных. *Фармация*. 2021;70(6):31-36]. doi: 10.29296/25419218-2021-06-06
 19. Baram GI. Chromatograph Milichrome A-02. Determination of substances using HPLC-UV databases. Novosibirsk, 2005. (In Russ.). [Барам Г.И. Хроматограф «Милихром А-02». Определение веществ с применением баз данных «ВЭЖХ-УФ». Новосибирск, 2005].
 20. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed. Vol I. "Measuring utensils"* [electronic edition]. (In Russ.). [Государственная Фармакопея РФ, XIV изд. Том I. «Мерная посуда»]. Available at: <https://femb.ru/record/pharmacopea14> (12 July 2022)
 21. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed. Vol. I. "Validation of analytical techniques"* [electronic edition]. (In Russ.). [Государственная Фармакопея РФ, XIV изд. Том I. «Валидация аналитических методик»]. Available at: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>
 22. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV ed. Vol. II. "Clopidogrel sulfatis tabulettae"* [electronic edition]. (In Russ.). [Государственная Фармакопея РФ, XIV изд. Том II. «Клопидогрела сульфат. Таблетки»]. Available at: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>
 23. *European Pharmacopoea. 7th ed. Council of Europe*. Strasbourg, 2011.
 24. *Derzhavna Farmakopeya Ukraïni. 1-e vid. Dopovnennyya 4*. Harkiv, 2011. (In Ukrain.).
 25. Setkina SB, Hishova OM, Zubkevich LV, et al. Comparative evaluation of the content of impurities in medicinal products containing clopidogrel bisulfate. *Vestnik farmacii*. 2014;2(64):50-58. (In Russ.). [Сеткина С.Б., Хишова О.М., Зубкевич Л.В., и др. Сравнительная оценка содержания примесей в лекарственных средствах, содержащих клопидогрела бисульфат. *Вестник фармации*. 2014;2(64):50-58].
 26. Pawaskar PS, Dighe VV, Adhyapak SS. Development of Reverse Phase Liquid Chromatographic Method for Determination of (+)-(S)-(o-Chlorophenyl)-6,7-Dihydrothieno [3,2-c] pyridine-5(4H)-acetic acid, Hydrochloride and Methyl (+/-) - (o-Chlorophenyl)-4,5-Dihydrothieno[2,3-c]pyridine-6(7H)-acetate, Hydrochloride from Clopidogrel Besylate. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars*. 2017;2(1):16-23.
 27. Saber AL, Elmosallamy MA, Amin AA. Liquid Chromatographic and Potentiometric Methods for Determinations of Clopidogrel. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2008;16(2):11-18.
 28. Kavitha J, Kokilambigai KS, Seetharaman R, et al. A Review of Analytical Methods for the determination of Clopidogrel in Pharmaceuticals and Biological Matrices, Critical Reviews in Analytical Chemistry. *Analytical Chemistry*. 2018;48(2):119-131. doi: 10.1080/10408347.2018.1427548
 29. Liu G, Dong C, Shen W, et al. Development and validation of an HPLC-MS/MS method to determine clopidogrel in human plasma. *Acta Pharm Sin B*. 2016;6(1):55-63. doi: 10.1016/j.apsb.2015.11.001

■ Автор для переписки

Аносова Людмила Сергеевна

Адрес: Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, пр. Ильича, 16, г. Донецк, Россия, 283003.

E-mail: apteka-NaNya@yandex.ru

■ Corresponding Author

Lyudmila S. Anosova

Address: Donetsk National Medical University n.a. M. Gorky, 16 Ilyich ave., Donetsk, Russia, 283003.

АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА ОБЫКНОВЕННОГО (*ACHILLEA MILLEFOLIUM* L.)

А.И. Васькова, В.А. Куркин

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

Для цитирования: Васькова А.И., Куркин В.А. **Актualityные аспекты качественного и количественного анализа тысячелистника обыкновенного (*Achillea Millefolium* L.).** *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):40-46. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.40-46

■ Сведения об авторах

Васькова А.И. – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ORCID: 0000-0002-6517-4816

E-mail: a.i.vaskova@samsmu.ru

Куркин В.А. – д-р фарм. наук, заведующий кафедрой фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ORCID: 0000-0002-7513-9352

E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Рукопись получена: 28.07.2022

Рецензия получена: 21.08.2022

Решение о публикации: 14.09.2022

■ Аннотация

Цель – разработать методику качественного и количественного анализа флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного.

Материал и методы. Материалом исследования служила трава тысячелистника обыкновенного, заготовленная в 2020 и 2021 году, а также промышленный образец сырья АО «Красногорсклексредства». Кроме того, использовались стандартные образцы (СО) флавоноидов, полученные авторами в ходе предыдущих исследований ЛРС, содержащего флавоноиды, охарактеризованные с использованием ЯМР, УФ и масс-спектро스코пии: рутин, кверцетин, кемпферол, цинарозид, лютеолин. Определение подлинности осуществляли методом тонкослойной хроматографии (качественный анализ). В качестве метода количественного определения суммы флавоноидов использована дифференциальная спектрофотометрия, проведенная в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений оценивали на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena AG, Германия) в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

Результаты. Исходя из результатов определения подлинности, выявлены три зоны адсорбции, имеющие яркое желтое свечение в УФ-свете при длине волны 365 нм (реагент – $AlCl_3$), одна из которых на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца цинарозида с величиной $R_f \approx 0,7$. Доминирующая зона адсорбции с величиной R_f 1,3 относительно СО цинарозида, предположительно, отнесена нами к космосину, а зона адсорбции с величиной $R_f \approx 0,8$ обнаружена на уровне СО кемпферола. Полученные данные подтверждают присутствие цинарозида в траве тысячелистника обыкновенного, а также возможность проведения качественного и количественного анализа травы данного сырья с использованием цинарозида в качестве стандартного образца. Также разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием государственного стандартного образца цинарозида при аналитической длине волны 400 нм. Содержание суммы флавоноидов для травы тысячелистника обыкновенного варьирует от $0,41 \pm 0,02$ % до $0,74 \pm 0,03$ % (в пересчете на цинарозид). Ошибка единичного определения с доверительной вероятностью 95% составляет 6,70%.

Ключевые слова: тысячелистник обыкновенный, *Achillea millefolium* L., трава, стандартизация, спектрофотометрия, флавоноиды, цинарозид.

Конфликт интересов: не заявлен.

CURRENT ASPECTS OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF COMMON YARROW (*ACHILLEA MILLEFOLIUM* L.)

Anastasiya I. Vaskova, Vladimir A. Kurkin

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Citation: Vaskova AI, Kurkin VA. **Current aspects of qualitative and quantitative analysis of common yarrow (*Achillea Millefolium* L.).** *Aspirantskiy vestnik Povolzhia*. 2022;22(4):40-46. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.40-46

■ Information about authors

Anastasiya I. Vaskova – a postgraduate student of the Department of Pharmacognosy with botany and the basics of phytotherapy.

ORCID: 0000-0002-6517-4816 E-mail: a.i.vaskova@samsmu.ru

Vladimir A. Kurkin – PhD, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy with botany and the basics of phytotherapy.

ORCID: 0000-0002-7513-9352 E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

Received: 28.07.2022

Revision Received: 21.08.2022

Accepted: 14.09.2022

■ Abstract

Aim – to develop a methodology for qualitative and quantitative analysis of flavonoids in the herb of *Achillea millefolium* L.

Material and methods. The material of the study was the yarrow herb harvested in 2020 and 2021, and an industrial sample from JSC "Krasnogorskleksredstva". Additionally, we used the reference samples of flavonoids: rutin, quercetin, kaempferol, cynaroside, and luteolin, received previously during our studies of the raw materials containing the flavonoids and described using the NMR, UV and mass spectroscopy. The authenticity was determined by the thin layer chromatography (qualitative analysis). For the quantitative analysis of the total flavonoids, we used the differential spectrophotometry, conducted in accordance with Pharmacopoeial monograph 1.2.1.1.0003.15 "Spectrophotometry in ultraviolet and visible spectra". The spectral characteristics of

the water-ethanolic extractions were marked using the spectrophotometer "Specord 40" (Analytik Jena AG, Germany), in cuvettes with layer thickness of 10 mm.

Results. Based on the results of the authenticity determination, we revealed three adsorption zones with bright yellow glow in UV light at a wavelength of 365 nm (reagent – AlCl_3), one of which was at the level of the adsorption zone in the chromatogram of the solution of standard sample of cynaroside with a value of $R_f \approx 0.7$. The dominant adsorption zone with a value of $R_s 1.3$ in respect to the reference sample of cynaroside was presumably attributed to cosmosiin, while the adsorption zone with a value of $R_f \approx 0.8$ was detected at the level of standard sample of kaempferol. The obtained data confirmed the presence of cynaroside in the herb of common yarrow, and also the possibility to conduct the qualitative and quantitative analysis of the given raw material with the use of cynaroside as a reference sample. We developed the method of quantitative determination of the total flavonoids in yarrow herb using a reference sample of cynaroside and differential spectrophotometry at an analytical wave length of 400 nm. The content of the total flavonoids for the common yarrow herb varied from $0.41 \pm 0.02\%$ to $0.74 \pm 0.03\%$ (equivalent to cynaroside). The error of single determination with 95% confidence interval was 6.70%.

■ **Keywords:** common yarrow; *Achillea millefolium* L.; herb; standardization; spectrophotometry; flavonoids; cynaroside.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Растения рода Тысячелистник (*Achillea*) распространены в лесной, лесостепной, степной зонах на суходольных лугах, луговых склонах гор, по залежам, окраинам полей в европейской части России, во многих районах Западной и Восточной Сибири, Дальнего Востока, Кавказа и Средней Азии [1, 2]. В настоящее время среди обширного перечня видов рода Тысячелистник (*Achillea*) в Государственную фармакопею Российской Федерации XIV издания включен только один – тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.) [3].

Трава тысячелистника обыкновенного, используемая в качестве лекарственного растительного сырья (ЛРС), является источником ряда биологически активных веществ (БАВ): эфирное масло, алкалоид ахиллеин, флавоноиды, кумарины, горькие и дубильные вещества, смолы, органические кислоты, аскорбиновая кислота, филлохинон, каротин, холин, минеральные вещества [4–7]. Препараты тысячелистника обладают желчегонными, гепатопротекторными, кровоостанавливающими, противовоспалительными свойствами [6, 8, 9, 10]. Также некоторыми учеными была выявлена антиоксидантная активность [11–14].

В настоящее время аспекты качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов становятся все более актуальными. Согласно методике ФС 2.5.0101.18 Государственной фармакопеи XIV издания «Тысячелистника обыкновенного трава», определение основных групп биологически активных веществ (БАВ) методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) предполагает использование стандартного образца судана III (рисунок 1). При этом ТСХ-анализ проводится в системе растворителей толуол – этилацетат (95:5); детекцию осуществляют анисового альдегида раствором спиртовым сернокислым [3]. Судан III не содержится в сырье данного растения, поэтому актуальным является разработка методики определения одной из основных групп биологически активных веществ – флавоноидов, принимая во внимание то обстоятельство, что одним их характерных компонентов травы тысячелистника обыкновенного является цинарозид (рисунок 1).

Также в методике ФС 2.5.0101.18 «Тысячелистника обыкновенного трава» предусмотрена стадия сочетания экстракции и кислотного гидролиза флавоноидных гликозидов спиртом этиловым 96%, содержащим 1% хлористоводородной кислоты концентрированной, с последующим определением суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин. С учетом того что содержащиеся в траве тысячелистника обыкновенного флавоноидные гликозиды, в том числе 7-О-гликозиды лютеолина (цинарозид) и апигенина (космосин), трудно поддаются кислотному гидролизу [6, 15], существует необходимость совершенствования методики количественного определения суммы флавоноидов в сырье данного растения.

ЦЕЛЬ

Разработка методики качественного и количественного анализа флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного.

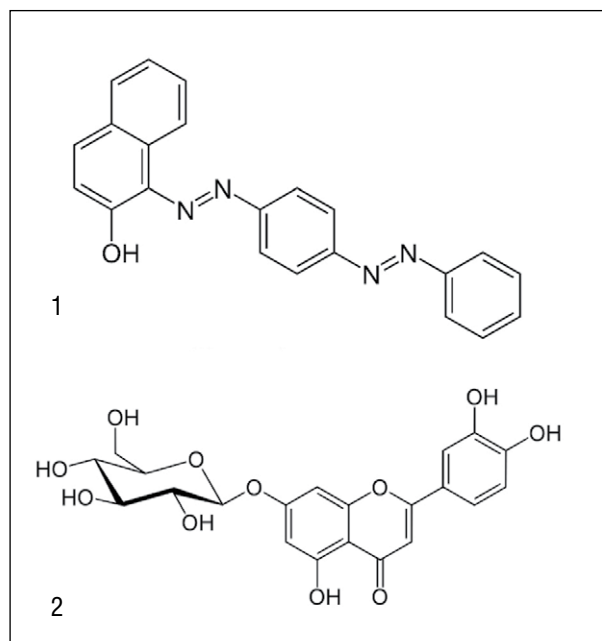


Рисунок 1. Структурные формулы судана III (1) и цинарозида (2).

Figure 1. Structural formulas of Sudan III (1) and cynaroside (2).

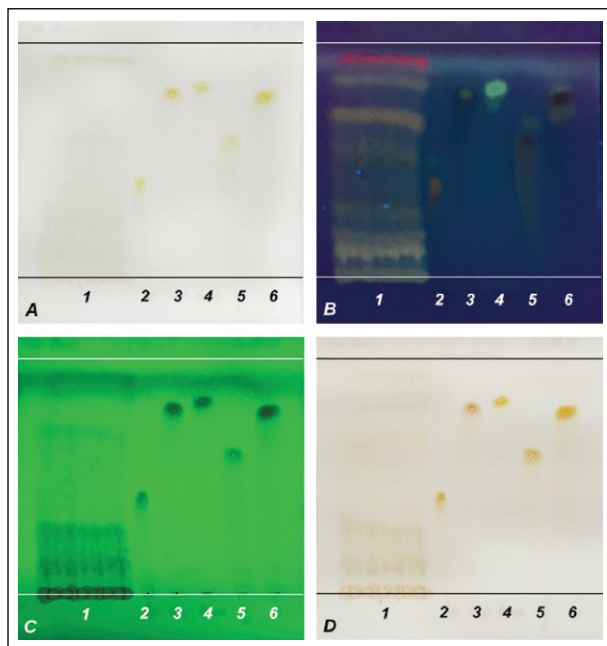


Рисунок 2. ТСХ-хроматограмма водно-спиртового извлечения травы тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.) в системе растворителей хлороформ – этанол – вода (25:18:2): А – детекция в видимом свете; В – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм; С – детекция в УФ-свете при длине волны 365 нм после обработки спиртовым раствором хлорида алюминия (AlCl_3); D – детекция после обработки раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК).

Обозначения: 1 – 70% водно-спиртовое извлечение травы тысячелистника обыкновенного; 2 – СО рутина; 3 – СО кверцетина; 4 – СО кемпферола; 5 – СО цинарозида; 6 – СО лuteолина.

Figure 2. TLC-chromatogram of water-ethanolic extraction from *Achillea millefolium* herb in a solvent system chloroform – ethanol – water (25: 18: 2): A – detection in visible light; B – detection in UV light at a wavelength of 365 nm; C – detection in UV light at a wavelength of 365 nm after processing with an ethanolic solution of aluminum chloride (AlCl_3); D – detection after processing with solution of diazobenzenesulfonic acid (DSC).

Designations: 1 – 70% water-ethanolic extraction from *Achillea millefolium* herb; 2 – rutin; 3 – quercetin; 4 – kaempferol; 5 – cynaroside; 6 – luteolin.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служила трава тысячелистника обыкновенного, заготовленная в 2020 и 2021 году, а также промышленный образец сырья АО «Красногорсклексредства». Кроме того, использовались стандартные образцы (СО) флавоноидов, полученные авторами в ходе предыдущих исследований ЛРС, содержащего флавоноиды, охарактеризованные с использованием ЯМР, УФ и масс-спектрологии: рутин, кверцетин, кемпферол, цинарозид, лuteолин.

Тонкослойную хроматографию осуществляли на хроматографических пластинах «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ». Капиллярами «LactatProfi3000» на линию старта наносили 0,02 мл водно-спиртового извлечения и параллельно 0,01 мл 0,02% растворов СО флавоноидов: рутин, кверцетин, кемпферол, цинарозид,

лuteолин. Определение проводили в системе хлороформ – этанол – вода (25:18:2). Хроматографическую пластинку помещали в камеру, которую предварительно насыщали в течение 60 минут смесью растворителей и хроматографировали восходящим способом.

Полученные хроматограммы просматривали при дневном свете, в УФ-свете при $\lambda=365$ нм и при $\lambda=254$ нм с помощью ультрафиолетового облучателя УФО-254/365 («Петролазер», Россия). Детекцию проводили щелочным раствором диазобензолсульфокислоты (ДСК) и 3% спиртовым раствором алюминия хлорида (AlCl_3).

В качестве метода количественного определения суммы флавоноидов использована дифференциальная спектрофотометрия, проведенная в соответствии с ОФС.1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Спектральные характеристики водно-спиртовых извлечений определяли на спектрофотометре Specord 40 (Analytik Jena AG, Германия) в кюветах с толщиной слоя 10 мм.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из результатов проведенных хроматографических исследований, выявлен ряд особенностей хроматографических профилей изучаемых объектов (**рисунок 2А**). При детектировании хроматографических пластинок с 70% водно-спиртовым извлечением травы тысячелистника обыкновенного выявлено наличие фенольных соединений (фенилпропаноиды, флавоноиды) (**рисунок 2**).

На хроматограмме извлечения обнаружены 3 зоны адсорбции, имеющие желтое окрашивание в видимом свете (**рисунок 2А**), яркое желтое свечение в УФ-свете при длине волны 365 нм (реагент – AlCl_3) и оранжево-желтое окрашивание при дальнейшей обработке щелочным раствором ДСК. Одна из зон адсорбции расположена на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора СО цинарозида с величиной $R_f \approx 0,7$ (**рисунок 2Б**), из чего можно заключить, что данное вещество является цинарозидом. Вторая доминирующая зона адсорбции с величиной R_s 1,3 относительно СО цинарозида предположительно отнесена нами к космосину. Кроме того, обнаружены другие флавоноидные соединения негликозидной структуры. Так, выявлена зона адсорбции желтого цвета с $R_f \approx 0,8$, что совпадает с величиной R_f СО кемпферола.

Полученные данные позволяют предположить присутствие цинарозида в траве тысячелистника обыкновенного, а также возможность проведения качественного и количественного анализа травы данного сырья с использованием цинарозида в качестве стандартного образца.

В целях разработки методики количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного были изучены УФ-спектры растворов водно-спиртовых извлечений из данного сырья (**рисунки 3, 4**). По данным эксперимента

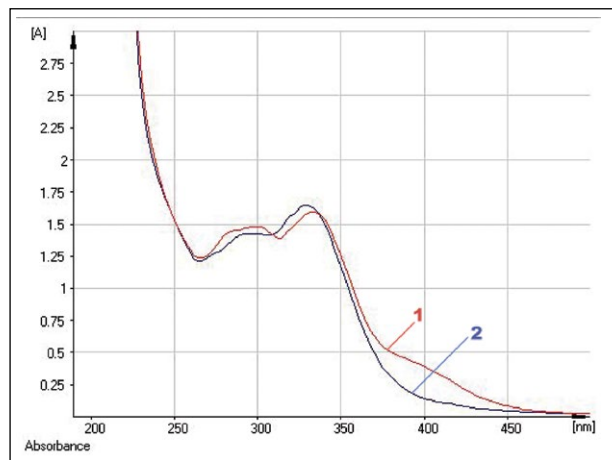


Рисунок 3. Электронные спектры растворов водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного. Обозначения: 1 – раствор извлечения; 2 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида.

Figure 3. Electronic spectra of ethanolic solution of extraction from *Achillea millefolium* herb. Designations: 1 – solution of extraction; 2 – solution of extraction with the addition of aluminum chloride.

определено, что в УФ-спектре водно-спиртового извлечения тысячелистника обыкновенного наблюдается bathochromный сдвиг длинноволновой полосы флавоноидов (**рисунок 3**), как и в случае цинарозида (**рисунок 5**). При изучении УФ-спектров ГСО цинарозида было выявлено, что раствор данного стандарта в присутствии алюминия хлорида имеет максимум поглощения при длине волны 400 нм (**рисунок 3**). В УФ-спектре водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного в дифференциальном варианте выявлен максимум поглощения при длине волны 400 нм (**рисунок 4**), который совпадает с максимумом поглощения спиртового раствора

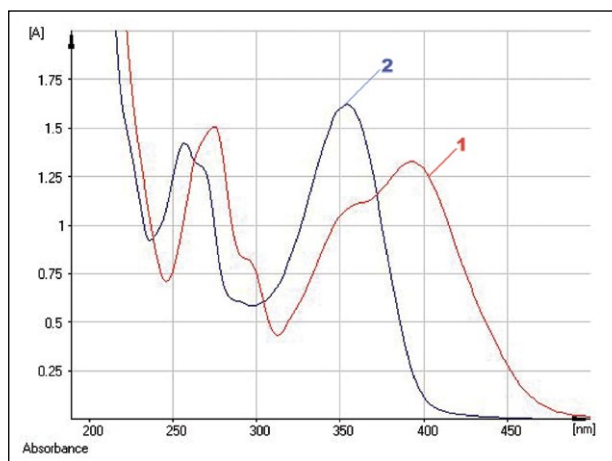


Рисунок 5. Электронные спектры спиртовых растворов цинарозида. Обозначения: 1 – исходный раствор; 2 – раствор с добавлением алюминия хлорида.

Figure 5. Electronic spectra of ethanolic solutions of cynaroside. Designations: 1 – initial solution; 2 – solution with the addition of aluminum chloride.

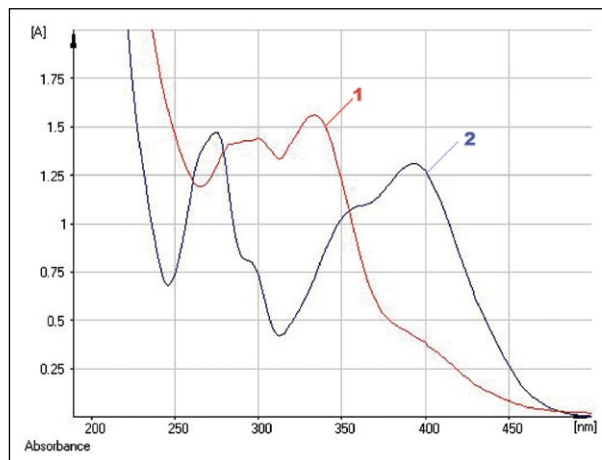


Рисунок 4. Сравнение электронных спектров растворов водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного и СО цинарозида. Обозначения: 1 – раствор извлечения с добавлением алюминия хлорида; 2 – раствор цинарозида с добавлением алюминия хлорида.

Figure 4. Comparison of electronic spectra of ethanolic solution of extraction from *Achillea millefolium* herb and reference substance of cynaroside. Designations: 1 – solution of extraction with the addition of aluminum chloride; 2 – solution of cynaroside with the addition of aluminum chloride.

цинарозида (**рисунок 5**). Поскольку флавоноидные гликозиды имеют более полярную природу по сравнению с их агликонами, целесообразным было обоснование оптимального экстрагента (**таблица 1**).

Исходя из результатов эксперимента, нами определены оптимальные условия экстракции флавоноидов в тысячелистнике обыкновенном траве: экстрагент 50% этиловый спирт; соотношение «сырье – экстрагент» – 1:30; время экстракции – извлечение на кипящей водяной бане в течение 45 мин, степень измельчения сырья – 2 мм (**таблица 1**). Использование степени измельчения сырья 2 мм обосновано тем, что данная величина выбрана исходя

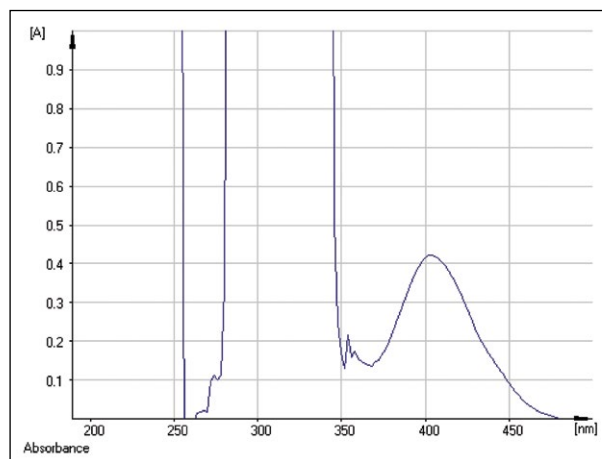


Рисунок 6. Электронный спектр раствора водно-спиртового извлечения из травы тысячелистника обыкновенного (дифференциальный вариант).

Figure 6. Electronic spectra of ethanolic solution of extraction from *Achillea millefolium* herb (differential option).

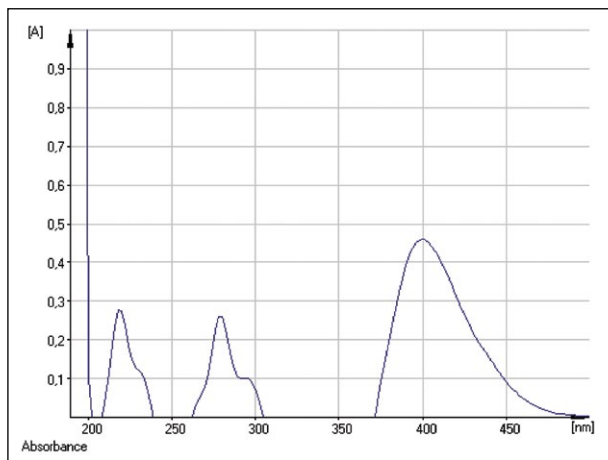


Рисунок 7. Электронный спектр спиртового раствора цинарозида (дифференциальный вариант).

Figure 7. Electronic spectra of solutions of ethanolic extraction of cynaroside (differential option).

из ФС 2.5.0101.18 «Тысячелистника обыкновенного трава» ГФ РФ XIV издания. Более высокое содержание суммы флавоноидов в случае использования степени измельчения 1 мм объясняется тем, что сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм проходит фракция сырья с преобладанием цветков и листьев (по сравнению со стеблями).

Методика количественного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного. Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм. Около 1 г измельченного сырья (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 50% этилового спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают на тарированных весах с точностью до $\pm 0,01$ г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане (умеренное кипение) в течение 45 мин. Затем ее 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: 2 мл полученного извлечения помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (испытуемый раствор А). Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре

Таблица 2 / Table 2

Метрологические характеристики методики количественного определения суммы флавоноидов в тысячелистнике обыкновенном траве

Metrological characteristics of the quantitation of the total flavonoids in the *Achillea millefolium* herb

n	f	$\bar{X}$	S	$S_{\bar{X}}$	P(%)	T(P,t)	ΔX	$\Delta \bar{X}$	E, %
11	10	0,4100	0,0121	0,00015	95,00%	2,2300	$\pm 0,0270$	0,0080	$\pm 6,7000$

Таблица 1 / Table 1

Зависимость полноты извлечения суммы флавоноидов из травы тысячелистника обыкновенного

Dependence of recovery rate of the total flavonoids from the *Achillea millefolium* herb

№ п/п	Концентрация экстрагента – этилового спирта, %	Соотношение сырье : экстрагент	Время экстракции, мин	Степень измельчения сырья, мм	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на цинарозид и абсолютно сухое сырье (в %)
1	40	1:30	45	2	0,22 $\pm$ 0,01
2	50				0,54 $\pm$ 0,02
3	60				0,45 $\pm$ 0,02
4	70				0,44 $\pm$ 0,02
5	80				0,25 $\pm$ 0,01
6	96				0,16 $\pm$ 0,01
7	50	1:30	30	2	0,42 $\pm$ 0,02
8			45		0,54 $\pm$ 0,02
9			60		0,53 $\pm$ 0,03
10			90		0,51 $\pm$ 0,02
11			120		0,37 $\pm$ 0,02
12	50	1:20	45	2	0,34 $\pm$ 0,02
13		1:30			0,54 $\pm$ 0,02
14		1:50			0,66 $\pm$ 0,03
15	50	1:30	45	1	0,77 $\pm$ 0,03
16				2	0,54 $\pm$ 0,02
17				3	0,49 $\pm$ 0,02

при длине волны 400 нм через 40 мин после приготовления. В качестве раствора сравнения используют раствор, полученный следующим образом: 2 мл извлечения (1:30) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора спиртом этиловым 96% до метки (испытуемый раствор Б). Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 400 нм. В качестве раствора сравнения используют раствор, который готовят следующим образом: 2 мл раствора А цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96% (раствор сравнения Б цинарозида).

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

$$x = \frac{D \cdot m_0 \cdot 30 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot m \cdot 2 \cdot 25 \cdot 25 \cdot (100 - W)}$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; D_0 – оптическая плотность раствора ГСО цинарозида; m – масса сырья, г; m_0 – масса ГСО цинарозида, г; W – потеря в массе при высушивании, в %.

Приготовление растворов

Раствор стандартного образца (СО) цинарозида. Около 0,05 г (точная навеска) цинарозида помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл

Таблица 3 / Table 3

Содержание суммы флавоноидов в образцах травы тысячелистника обыкновенного

Concentration of the total flavonoids in the samples of the *Achillea millefolium* herb

№ п/п	Характеристика образца сырья	Содержание суммы флавоноидов в абсолютно сухом сырье (в %) в пересчете на цинарозид
1	Самарская область (июль 2020 г.)	0,54±0,02
2	Оренбургская область (июль 2021 г.)	0,74±0,03
3	Республика Татарстан (июль 2021 г.)	0,51±0,02
4	АО «Красногорск-лексредства»	0,71±0,03

50% этилового спирта при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора 50% этиловым спиртом до метки (раствор А цинарозида). 2 мл раствора А цинарозида помещают в мерную колбу на 25 мл, прибавляют 2 мл 3% спиртового раствора алюминия хлорида и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 % (испытываемый раствор Б цинарозида).

В случае отсутствия СО цинарозида целесообразно использовать теоретическое значение удельного показателя поглощения при 400 нм – 340.

$$x = \frac{D \cdot 30 \cdot 25 \cdot 100}{m \cdot 340 \cdot 2 \cdot (100 - W)},$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора; m – масса сырья, г; 340 – удельный показатель поглощения ($E_{1\%}^{1\text{см}}$) ГСО цинарозида при 400 нм; W – потеря в массе при высушивании, в %.

Метрологические характеристики методики количественного определения содержания суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного представлены в **таблице 2**. Исходя из результатов статистической обработки проведенных опытов, можно сказать о том, что ошибка единичного определения суммы флавоноидов в траве тысячелистника обыкновенного с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 6,70\%$.

Валидационная оценка разработанной методики проводилась по показателям: специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость. Специфичность методики определялась по соответствию максимумов поглощения комплекса флавоноидов травы тысячелистника обыкновенного и цинарозида с алюминием хлоридом; выявлен максимум поглощения при длине волны 400 нм (рисунок 4), который совпадает с максимумом поглощения спиртового раствора цинарозида (рисунок 5). Линейность методики определяли для серии растворов водно-спиртового извлечения (разведения 1/25 мл, 2/25 мл, 2/50 мл) (с концентрациями в диапазоне от 0,0020 до 0,0112 мг/мл)

и СО цинарозида (с концентрациями в диапазоне от 0,0022 до 0,0110 мг/мл). Коэффициент корреляции для испытуемого раствора составил 0,9947, для СО цинарозида – 0,9979.

С использованием разработанной методики нами проанализированы образцы травы тысячелистника обыкновенного из разных регионов, а также образец фасованного сырья (**таблица 3**), и при этом определено, что содержание суммы флавоноидов варьирует от 0,41±0,02% до 0,74±0,03%. На основе полученных данных нами рекомендован нижний предел содержания суммы флавоноидов для сырья данного растения не менее 0,4% в соответствии с Государственной фармакопеей РФ XIV издания, однако в пересчете на цинарозид.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о целесообразности стандартизации травы тысячелистника обыкновенного путем экстракции данного сырья 50% спиртом этиловым (без сопутствующего этой стадии кислотного гидролиза) с последующим определением суммы флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии при аналитической длине волны 400 нм в пересчете на цинарозид, причем с сохранением числового показателя – суммы флавоноидов не менее 0,4% в соответствии с ФС 2.5.0101.18 Государственной фармакопеей РФ XIV издания «Тысячелистника обыкновенного трава».

ВЫВОДЫ

1. В ходе проведения ТСХ-анализа обнаружены три зоны адсорбции, имеющие яркое желтое свечение в УФ-свете при длине волны 365 нм (реагент – AlCl_3), одна из которых на уровне зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца цинарозида с величиной $R_f \approx 0,7$. Полученные данные позволяют предположить присутствие цинарозида в траве тысячелистника обыкновенного, а также возможность проведения качественного и количественного анализа травы данного сырья с использованием цинарозида в качестве стандартного образца.

2. Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в тысячелистнике обыкновенном траве методом дифференциальной спектрофотометрии с использованием СО цинарозида при аналитической длине волны 400 нм. Результаты проведенных исследований позволяют рекомендовать для тысячелистника обыкновенного травы нижний предел содержания суммы флавоноидов не менее 0,4% в соответствии с ФС 2.5.0101.18 Государственной фармакопеей РФ XIV издания «Тысячелистника обыкновенного трава», однако в пересчете не на лютеолин, а на цинарозид.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Maevskii PF. *Flora of Middle Part of European Russia*. M., 2014. (In Russ.). [Маевский П.Ф. *Флора средней полосы европейской части России*. М., 2014].
2. Maznev NI. *Encyclopedia of Medicinal Plants*. M., 2004:407-408. (In Russ.). [Мазнев Н.И. *Энциклопедия лекарственных растений*. М., 2004:407-408].
3. Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV-ed. [Electronic resource]. (In Russ.). [Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронное издание]. URL: <https://femb.ru/record/pharmacopeia14>]
4. Vernikovskaya NA, Temerdashev ZA. Identification and chromatographic determination of phenolic compounds in yarrow. *Analitika i kontrol'*. 2012;2:188-195. (In Russ.). [Верниковская Н.А., Темердашев З.А. Идентификация и хроматографическое определение фенольных соединений в тысячелистнике обыкновенном. *Аналитика и контроль*. 2012;2:188-195].
5. Komarov BA. The elemental composition of yarrow. *Razrabotka i registraciâ lekarstvennyh sredstv*. 2018;3:158-161. (In Russ.). [Комаров Б.А. Элементный состав тысячелистника обыкновенного. 2018;3:158-161].
6. Kurkin VA. *Pharmacognosy*. Samara, 2020. (In Russ.). [Куркин В.А. *Фармакогнозия*. Самара, 2020].
7. Shatalina NV, Pervishina GG, Efremov AA, et al. Content of some biologically active substances in common yarrow herb (*Achillea millefolium*) growing in Krasnoyarsk region. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2002;3:13-16. (In Russ.). [Шаталина Н.В., Первышина Г.Г., Ефремов А.А., и др. Содержание некоторых биологически активных веществ в траве тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*), произрастающего в Красноярском крае. *Химия растительного сырья*. 2002;3:13-16].
8. Aslanova D, Karomatov ID. *Achillea millefolium* in traditional and scientific medicine. *Biologiya i integrativnaya meditsina*. 2018;1(18):167-186. (In Russ.). [Асланова Д., Кароматов И.Д. Тысячелистник обыкновенный в народной и научной фитотерапии. *Биология и интегративная медицина*. 2018;1(18):167-186].
9. Chusovitina KA, Karpuhin MYu. Pharmacological specificities of Yarrow (*Achillea millefolium* L.). *Agrarnoe obrazovanie i nauka*. 2019;4:31. (In Russ.). [Чусовитина К.А., Карпухин М.Ю. Фармакологические особенности тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.). *Аграрное образование и наука*. 2019;4:31].
10. Lakshmi T, Geetha RV, Anitha R, et al. Yarrow (*Achillea millefolium* Linn.) A herbal medicinal plant with broad therapeutic use – A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011;9:136-141.
11. Vardanyan LR, Atabekyan LV, Hayrapetyan SA, Vardanyan RL. Antioxidant activity of the ethyl acetate extract of different types of the thousand (*Achillea* L.). *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2018;3:61-68. (In Russ.). [Варданян Л.Р., Атабекян Л.В., Айрапетян С.А., Варданян Р.Л. Антиоксидантная активность этилацетатного экстракта разных видов тысячелистника (*Achillea* L.). *Химия растительного сырья*. 2018;3:61-68]. doi: 10.14258/jcprm.2018033697
12. Tarun EI, Kuxta AN, Nebokatkina AA, Kurchenko VP. Antioxidant activity of extracts of milfoil flowers and leaves. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2022;3:57-65. (In Russ.). [Тарун Е.И., Кухта А.Н., Небокаткина А.А., Курченко В.П. Антиоксидантная активность экстрактов цветов и листьев тысячелистника. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2022;3:57-65]. doi: 10.46646/SAKH-2020-2-174-177
13. Ahmadi A, Ezzatpanah H, Asgary S, et al. Phytochemical, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Flowers and Leaves of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2017;20:395-409. doi: 10.1080/0972060X.2017.1280419
14. Salehi B, Selamoglu Z, Sevindik M, et al. *Achillea* spp.: A comprehensive review on its ethnobotany, phytochemistry, phytopharmacology and industrial applications. *Cellular and molecular biology*. 2020;66(4):78-103. doi: 10.14715/cmb/2020.66.4.13
15. Kurkina AV. *Flavonoids of pharmacopoeial plants*. Samara, 2012. (In Russ.). [Куркина А.В. *Флавоноиды фармакопейных растений*. Самара, 2012].

■ Автор для переписки

Куркин Владимир Александрович
Адрес: Самарский государственный медицинский университет;
ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

■ Corresponding Author

Vladimir A. Kurkin
Address: Samara State Medical University,
89 Chapaevskaya st., Samara, Russia, 443099.
E-mail: v.a.kurkin@samsmu.ru

КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ ФЛАВОНОИДОВ СОЦВЕТИЙ БАРХАТЦЕВ ОТКЛОНЕННЫХ (*TAGETES PATULA* L.)

А.Е. Савельева, А.В. Куркина

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

Для цитирования: Савельева А.Е., Куркина А.В. Компонентный состав флавоноидов соцветий бархатцев отклоненных (*Tagetes patula* L.). Аспирантский вестник Поволжья. 2022;22(4):47-50. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.47-50

■ Сведения об авторах

Савельева А.Е. – аспирант кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии. ORCID: 0000-0002-3837-0977

E-mail: a.e.saveleva@samsmu.ru

Куркина А.В. – д-р фарм. наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии с курсом биотехнологий.

ORCID: 0000-0002-5028-9186 E-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

Рукопись получена: 03.10.2022

Рецензия получена: 12.11.2022

Решение о публикации: 28.11.2022

■ Аннотация

Цель – выделение и идентификация индивидуальных соединений флавоноидной природы из соцветий бархатцев отклоненных.

Материал и методы. Материалом исследования являлись соцветия бархатцев отклоненных сорта «Мандарин», собранных в августе 2018 года в Ботаническом саду Самарского университета в период массового цветения и плодоношения растения. Было проведено выделение индивидуальных веществ методом адсорбционной колоночной хроматографии на силикагеле L 40/100 (Чехия) с последующей перекристаллизацией. Идентификацию выделенных соединений проводили на основании данных УФ-, ¹H-ЯМР-, ¹³C-ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии.

Результаты. Были выделены и идентифицированы доминирующие и диагностически значимые флавоноиды соцветий бархатцев отклоненных: патулитрин и патулетин. Впервые из данного вида растительного сырья выделены 6-метоксикамферол и его глюкозид – 7-О-β-D-глюкопиранозид 6-метоксикамферола. В минорных количествах был получен кверцетин. Полученные данные способствуют разработке подходов к идентификации и стандартизации данного вида растительного сырья.

Ключевые слова: бархатцы отклоненные, *Tagetes patula* L., соцветия, флавоноиды, колоночная хроматография, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

■ Список сокращений

ЛРП – лекарственный растительный препарат; БАС – биологически активное соединение; ТСХ – тонкослойная хроматография.

THE COMPOSITION OF FLAVONOID IN THE INFLORESCENCES OF SPREADING MARIGOLD (*TAGETES PATULA* L.)

Anna E. Saveleva, Anna V. Kurkina

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Citation: Saveleva AE, Kurkina AV. The composition of flavonoids in the inflorescences of spreading marigold (*Tagetes patula* L.). Aspirantskiy vestnik Povolzhia. 2022;22(4):47-50. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.47-50

■ Information about authors

Anna E. Saveleva – a postgraduate student of the Department of Pharmacognosy with botany and the basics of phytotherapy.

ORCID: 0000-0002-3837-0977 E-mail: a.e.saveleva@samsmu.ru

Anna V. Kurkina – PhD, Associate professor, Head of the Department of Pharmaceutical technology with a course of biotechnologies.

ORCID: 0000-0002-5028-9186 E-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

Received: 03.10.2022

Revision Received: 12.11.2022

Accepted: 28.11.2022

■ Abstract

Aim – to isolate and identify individual compounds of flavonoid nature from the inflorescences of spreading marigold (*T. patula* L.).

Material and methods. The research material was the inflorescences of *T. patula* L. of the variety "Mandarin", collected in August 2018 in the Botanical Garden of the Samara University during the mass flowering and fruiting period. We isolated individual substances by adsorption column chromatography on silica gel L 40/100 (Czech Republic) with subsequent recrystallization. For the identification of the isolated compounds, we used the UV, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectroscopy and mass spectrometry data.

Results. The dominant and diagnostically significant flavonoids of the inflorescences of the spreading marigold, patulitrin and patuletin, were isolated and identified. For the first time, the 6-methoxykaempferol and 7-O-β-D-glucopyranoside of 6-methoxykaempferol were isolated from this type of plant raw material. Quercetin was obtained in minor quantities. The results of the study can be used for developing the methods of identification and standardization of the inflorescences of *Tagetes patula* L.

■ **Keywords:** Spreading marigold, *Tagetes patula* L., inflorescences, flavonoids, column chromatography, NMR spectroscopy, mass spectrometry.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственное растительное сырье широко используется в современной фармацевтической промышленности для получения целого ряда лекарственных растительных препаратов (ЛРП), сочетающих в себе широкий спектр фармакологической активности [1–3]. Такие лекарственные препараты нашли применение в лечении хронических нозологий благодаря отсутствию значительного количества побочных эффектов и противопоказаний, а также доступности и дешевизне производства [4, 5]. Эффективность некоторых ЛРП обоснована в том числе и с позиции доказательной медицины [6, 7].

В этой связи актуальным является поиск новых лекарственных растений, которые в дальнейшем послужат сырьевыми источниками для создания безопасных и эффективных лекарственных препаратов.

Бархатцы отклоненные (*Tagetes patula* L.) являются перспективным источником лекарственного растительного сырья. Отвар из цветков бархатцев применяется в народной медицине в качестве потогонного и мочегонного средства, а также при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта [8–11]. Цветки бархатцев отличаются высоким содержанием биологически активных соединений: каротиноидов, эфирного масла, флавоноидов и простых фенолов [12–16]. На наш взгляд, данное растение представляет интерес для более детального изучения компонентного состава флавоноидов, в частности, с помощью препаративного выделения и последующей идентификацией индивидуальных соединений.

ЦЕЛЬ

Выделение и идентификация индивидуальных соединений флавоноидной природы из соцветий бархатцев отклоненных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследования являлись соцветия бархатцев отклоненных сорта «Мандарин», собранных в августе 2018 года в Ботаническом саду Самарского университета в период массового цветения и плодоношения растения.

С целью изучения флавоноидов соцветий *Tagetes patula* L. нами было проведено выделение индивидуальных веществ методом адсорбционной колоночной хроматографии на силикагеле L 40/100 (Чехия) с последующей перекристаллизацией. Процесс разделения веществ контролировали визуально (по изменению интенсивности окраски раствора) и с помощью метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) в системе растворителей хлороформ – этанол 96% – вода в соотношении 25:18:2.

Идентификацию выделенных соединений проводили на основании данных УФ-, ^1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Спектры ЯМР ^1H получали на приборе JNM-ECX 400 (399.78 МГц), спектры ЯМР ^{13}C – на приборе JNM-ECX 400 (100.52

МГц). Масс-спектры высокого разрешения были зарегистрированы на приборе Bruker micrOTOF II методом электрораспылительной ионизации (ESI).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нами было получено извлечение в соотношении 1:5 из 150 г соцветий с помощью 70% этилового спирта в связи с наибольшей селективной экстракционной способностью в отношении флавоноидов [17]. Полученное извлечение упаривали под вакуумом, наносили на силикагель L 40/100 и высушивали. В качестве элюентов использовали хлороформ, а также смеси хлороформа и этилового спирта в различных соотношениях. Элюаты делили на фракции по 200–250 мл (таблица 1). Полученные после операции элюирования фракции переносили в промаркированные колбы и упаривали на ротационно-вакуумной установке до объема 10 мл. Сконцентрированные элюаты вносили в соответствующие емкости объемом 10 мл и проводили операции очистки и перекристаллизации.

Вещество 1 из соцветий бархатцев отклоненных удалось выделить из фракций, полученных элюированием смесью хлороформа и этилового спирта в соотношении 60:40. Выделенное доминирующее вещество с величиной R_f около 0,4 подвергалось очистке перекристаллизацией.

Соединение 2 получено из фракций №38–49 той же колонки и имеет величину R_f около 0,7. Очистка соединения осуществлялась перекристаллизацией.

В минорных количествах обнаружено вещество 3 во фракциях №31 и 32. Данное соединение имеет некристаллическую структуру.

Во фракциях №81–88 обнаружено вещество 4. Элюент – хлороформ и этанол 96% в соотношениях 70:30 и 60:40. Данные фракции объединялись в одну и после подвергались рехроматографической очистке на полиамиде. Элюирование веществ в хроматографической колонке проводили системой состава вода и водный раствор этанола различных соотношений

Таблица 1 / Table 1

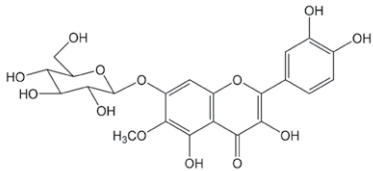
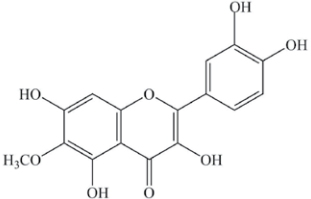
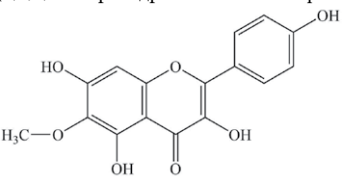
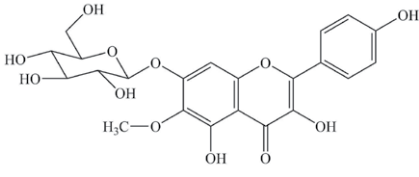
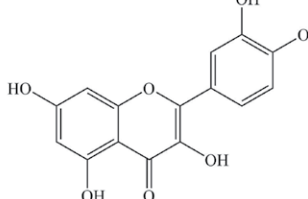
Схема элюирования фракций из экстракта соцветий *T. patula* L.

A scheme of elution of fractions from the extract of *T. patula* L. inflorescences

№ фракций	Состав элюента, %		Объем элюента, мл
	Хлороформ	Этанол 96%	
1–2	100	0	500
3–7	99	1	500
8–13	97	3	500
14–26	95	5	1000
27–37	93	7	1000
38–49	90	10	1000
50–62	85	15	1000
63–73	80	20	1000
74–84	70	30	1000
85–102	60	40	1500
103–111	50	50	1000

Таблица 2 / Table 2

Физико-химические характеристики биологически активных соединений, содержащихся в соцветиях бархатцев отклоненных
Physical and chemical characteristics of biologically active compounds of the inflorescences of *Tagetes patula* L.

№	Название и химическая формула соединения	Характеристики вещества
1	Патулитрин (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавона) 	Кристаллическое вещество ярко-желтого цвета состава $C_{22}H_{22}O_{13}$ с т. пл. 250–252°C (спирт этиловый). УФ-спектр: $\lambda_{\text{max}}^{\text{вон}}$ 266, 382 нм; + NaOAc 266, 384 нм; + NaOAc + H_3BO_3 272, 400 нм; + $AlCl_3$ 276, 382 пл., 443 нм; + $AlCl_3$ + HCl 275, 382 пл., 438 нм; + NaOMe 303, 373, 445 (пл.) нм. 1H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.47 (1H, с, 5-ОН-группа), 9.48 (3H, уш. с, 3-ОН-группа, 7-ОН-группа и 4'-ОН-группа), 7.70 (1H, д, 2.5 Гц, H-2'), 7.52 (1H, дд, 2.5 и 8.5 Гц, H-6'), 6.92 (1H, с, H-8), 6.88 (1H, д, 8.5 Гц, H-5'), 5.11 (1H, д, J = 7.12, H-1" глюкопиранозы), 3.75 (3H, с, OCH₃ при C-6), 3.3–4.6 (6H глюкопиранозы). ^{13}C-ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO-d_6, δC, 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), 94.38 (C-8), 77.75 (C-5" 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). HR-ESI-MS, 180°C, m/z: 495.1133 [M+H]⁺, m/z 517.0940 [M+Na]⁺
2	Патулетин (3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавонон) 	Кристаллическое вещество ярко-желтого цвета состава $C_{16}H_{12}O_8$; т.пл. 265–267°C (водный спирт). УФ-спектр: $\lambda_{\text{max}}^{\text{вон}}$ 264, 296 пл., 378 нм; + NaOAc 268, 382 + NaOAc + H_3BO_3 270, 396; + $AlCl_3$ 274, 381 пл., 438 нм; + $AlCl_3$ + HCl 275, 381 пл., 436 нм; + NaOMe 328, 368 пл., 428 (пл.) нм. 1H-ЯМР-спектр (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.54 (1H, с, 5-ОН-группа), 10.65 (1H, с, 7-ОН-группа), 9.56 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9.32 (1H, с, 3-ОН-группа), 7.64 (1H, д, 2.5 Гц, H-2'), 7.50 (1H, дд, 2.5 и 8.5 Гц, H-6'), 6.85 (1H, д, 8.5 Гц, H-5'), 6.48 (1H, с, H-8), 3.73 (3H, с, OCH₃ при C-6). ^{13}C-ЯМР спектр (100.52 МГц, DMSO-d_6, δC, 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). HR-ESI-MS, 180°C, m/z: 333.0605 [M+H]⁺, 355.0424 [M+Na]⁺, 371.0164 [M+K]⁺
3	6-метоксикемпферол (3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавонон) 	Аморфное вещество желто-оранжевого цвета состава $C_{16}H_{12}O_8$; т. пл. 269–271°C. УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 275, 372; + NaOAc 278, 379 + NaOAc + H_3BO_3 278, 380; + $AlCl_3$ 278, 431; + $AlCl_3$ + HCl 278, 431; + NaOMe 285, 427. Спектр ЯМР 1H (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.53 (1H, с, 5-ОН-группа), 10.65 (1H, с, 7-ОН-группа), 10.07 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9.35 (1H, с, 3-ОН-группа), 7.99 (2H, д, J = 9.0, H-2' и H-6'), 6.88 (2H, д, J = 9.0, H-3' и H-5'), 6.50 (1H, с, H-8), 3.71 (3H, с, 6-OCH₃ при C-6). Спектр ЯМР ^{13}C (100.52 МГц, DMSO-d_6, δC, м.д.): 176.65 (C-4), 159.93 (C-7), 156.89 (C-5), 151.95 (C-9), 148.44 (C-2), 145.59 (C-4'), 136.28 (C-3), 132.32 (C-6), 130.18 (C-2' и C-6'), 122.39 (C-1'), 115.98 (C-3' и C-5'), 104.32 (C-10), 100.71 (C-1" глюкозы), 94.32 (C-8), 77.76 (C-5" глюкозы), 77.21 (C-3" глюкозы), 73.50 (C-2" глюкозы), 70.08 (C-4" глюкозы), 60.86 (C-6" глюкозы), 56.57 (CH₃O при C-6). HR-ESI-MS, 180°C, m/z: 479.1164 [M+H]⁺, 501.1003 [M+Na]⁺, 517.0963 [M+K]⁺
4	7-О-β-D-глюкопиранозид 6-метоксикемпферола (7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавона) 	Аморфное вещество желтого цвета состава $C_{22}H_{22}O_{12}$. УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 274, 372 нм; + NaOAc 274, 372; + NaOAc + H_3BO_3 278, 380; + $AlCl_3$ 278, 426; + $AlCl_3$ + HCl 278, 426; + NaOMe 284, 425. Спектр ЯМР 1H (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.60 (1H, с, 5-ОН-группа), 9.43 (2H, уш. с, 3-ОН-группа и 4'-ОН-группа), 8.03 (2H, д, J = 9.0, H-2' и J = H-6'), 6.94 (2H, д, J = 9.0, H-3' и H-5'), 6.91 (1H, с, H-8), 5.24 (1H, д, J = 7.0, H-1" глюкопиранозы), 3.71 (3H, с, 6-OCH₃ при C-6), 3.4–5.0 (6H глюкопиранозы). Спектр ЯМР ^{13}C (100.52 МГц, DMSO-d_6, δC, м.д.): 176.65 (C-4), 159.93 (C-7), 156.89 (C-5), 151.95 (C-9), 148.44 (C-2), 145.59 (C-4'), 136.28 (C-3), 132.32 (C-6), 130.18 (C-2' и C-6'), 122.39 (C-1'), 115.98 (C-3' и C-5'), 104.32 (C-10), 100.71 (C-1" глюкозы), 94.32 (C-8), 77.76 (C-5" глюкозы), 77.21 (C-3" глюкозы), 73.50 (C-2" глюкозы), 70.08 (C-4" глюкозы), 60.86 (C-6" глюкозы), 56.57 (CH₃O при C-6). HR-ESI-MS, 180°C, m/z: 479.1164 [M+H]⁺, 501.1003 [M+Na]⁺, 517.0963 [M+K]⁺
5	Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавонон) 	Ярко-желтое кристаллическое вещество состава $C_{15}H_{10}O_7$ с т.пл. 310–312°C. УФ-спектр (EtOH, λ_{max}, нм): 257, 268 пл, 375; + NaOAc 274, 380; + NaOAc + H_3BO_3 274, 398; + $AlCl_3$ 270, 430; + $AlCl_3$ + HCl 270, 410. Спектр ЯМР 1H (399.78 МГц, DMSO-d_6, δ, м.д., J/Гц): 12.45 (1H, с, 5-ОН), 10.72 (1H, с, 7-ОН-группа), 9.54 (1H, с, 4'-ОН-группа), 9.32 (1H, с, 3'-ОН-группа), 9.26 (1H, с, 3-ОН-группа), 7.64 (1H, д, J = 2.5, H-2'), 7.51 (дд, J = 2.5 и J = 9.0, H-6'), 6.83 (1H, д, J = 9.0, H-5'), 6.37 (1H, д, J = 2.5, H-8), 6.15 (1H, д, J = 2.5, H-6)

(20%; 40%; 70%; 96%). В итоге после операции ре-хроматографирования выделено вещество 4 (элюент – спирт этиловый 40% и 70% концентрации).

В минорных количествах выделено также вещество 5 из фракций №38–49 основной колонки. Данное биологически активное соединение (БАС) было обнаружено вместе с соединением 2, основным выделенным веществом из данных фракций.

Структуру выделенных индивидуальных соединений устанавливали на основании полученных нами данных УФ-, 1H -ЯМР-, ^{13}C -ЯМР-спектроскопии,

масс-спектрометрии. Характеристики веществ, выделенных из экстракта соцветий *Tagetes patula* L. методом жидкостно-адсорбционной хроматографии, указаны в **таблице 2**.

Таким образом, соединения 1 и 2 были идентифицированы как патулитрин и его агликон – патулетин. Впервые для данного вида сырья выделены флавоноиды 3 и 4. По результатам исследований данные соединения идентифицированы как 6-метоксикемпферол (3,4',5,7-тетрагидрокси-6-метоксифлавонон) и его глюкозид 7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,4'-тетрагид-

рокси-6-метоксифлавона соответственно. Данные БАС ранее не встречались в соцветиях бархатцев отклоненных или других видах рода *Tagetes* L. Соединение 5 представляет собой кверцетин, описанный ранее для цветков бархатцев отклоненных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования из соцветий бархатцев отклоненных выделено 5 флавоноидов: 7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавона, 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавоны, 3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавоны, 7-О-β-D-глюкопиранозид 3,5,7,4'-тетрагидрокси-6-метоксифлавоны и 3,5,7,3',4'-пентагидрокси-6-метоксифлавоны. Среди них 6-метоксикемпферол и его гликозид описаны впервые для данного вида сырья.

Полученные данные могут быть использованы для разработки и улучшения методик стандартизации соцветий бархатцев отклоненных, таких как определение подлинности сырья, количественное определение суммы флавоноидов.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kladova OV, Anxhel AE, Kompaniets YuV. The role of herbal medicine having anti-inflammatory and secretolytic effects in the treatment of cough during ARVI. *Meditsinskiy Sovet*. 2020;1:92-99. (In Russ.). [Кладова О.В., Анджель А.Е., Компаниец Ю.В. Роль растительного лекарственного препарата с противовоспалительным и секретолитическим действием в лечении кашля при ОРВИ. *Медицинский совет*. 2020;1:92-99]. doi: 10.21518/2079-701X-2020-1-92-99
2. Koreyba KA, Tsyplakov DE, Minabutdinov AR. The use of natural herbal ingredients in the treatment of diabetes. *Medicina. Sociologia. Filosofia. Prikladnye issledovaniya*. 2020;3:49-51. (In Russ.). [Корейба К.А., Цыплавков Д.Э., Минабутдинов А.Р. Использование натуральных растительных ингредиентов при лечении больных сахарным диабетом. *Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования*. 2020;3:49-51].
3. Yaborgova OV, Sosnina SA, Turyshev AYU. Study of diuretic and anti-inflammatory activity of infusion and extract of dried strawberry leaves. *Medical and pharmaceutical journal "Pulse"*. 2021;23(6):139-142. (In Russ.). [Яборова О.В., Соcнина С.А., Турышев А.Ю. Изучение диуретической и противовоспалительной активности настоя и экстракта сухого листьев земляники садовой. *Медико-фармацевтический журнал «Пульс»*. 2021;23(6):136-142]. doi: 10.26787/nydha-2686-6838-2021-23-6-136-142
4. Demidova OA, Arkhipov VV, Zhuravleva MV, et al. Safety of herbal medicines: clinical and pharmacological aspects. *Safety and Risk of Pharmacotherapy*. 2020;8(4):165-177. (In Russ.). [Демидова О.А., Архипов В.В., Журавлева М.В., и др. Безопасность лекарственных растительных препаратов: клинико-фармакологические аспекты. *Безопасность и риск фармакотерапии*. 2020;8(4):165-177]. doi: 10.30895/2312-7821-2020-8-4-165-177
5. Rukavitsyna NP, Sakanyan EI, Evdokimova OV. Development

of a new dosage form of herbal medicinal products. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2019;9(2):72-78. (In Russ.). [Рукавицына Н.П., Саканян Е.И., Евдокимова О.В. Разработка новой лекарственной формы лекарственных препаратов растительного происхождения. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2019;9(2):72-78]. doi: 10.30895/1991-2919-2019-9-2-72-78

6. Bachert C. Review of the experience of using herbal drugs for the treatment of acute rhinosinusitis from the standpoint of evidence-based medicine. *Consilium Medicum*. 2021;23(9):430-440. (In Russ.). [Бахерт К. Обзор опыта применения растительных препаратов для лечения острого риносинусита с позиции доказательной медицины. *Consilium Medicum*. 2021;23(9):430-440]. doi: 10.26442/20751753.2021.9.200988
7. Gurov AV, Muzhichkova AV, Kelemetov AA. Topical issues in the treatment of chronic tonsillitis. *Meditsinskiy Sovet*. 2021;(6):67-73. (In Russ.). [Гуров А.В., Мужичкова А.В., Келеметов А.А. Актуальные вопросы лечения хронического тонзиллита. *Медицинский совет*. 2021;(6):67-73]. doi: 10.21518/2079-701X-2021-6-67-73
8. Patetsky VS, Timasheva LA, Pekhova OA, et al. *Essential oils and their quality*. Simferopol, 2021. (In Russ.). [Патецкий В.С., Тимашева Л.А., Пехова О.А., и др. *Эфирные масла и их качество*. Симферополь, 2021]. ISBN: 978-5-907506-16-9
9. Tavlinova GK. *Marigold*. M., 2004. (In Russ.). [Тавлинова Г.К. *Бархатцы*. М., 2004]. ISBN: 5-9524-0883-4
10. Kholikova O, Azonov DA, Ganiev KhA. Influence of the essential oil of velvets of the fine treatment (*Tagetes Patula* L.) on some biochemical processes in toxic hepatitis. *Colloquium-journal*. 2019;11(35):49-52. (In Russ.). [Холикова О., Азонов Д.А., Ганиев Х.А. Влияние эфирного масла бархатцев мелкоцветковых (*Tagetes Patula* L.) на некоторые биохимические процессы при токсическом гепатите. *Colloquium-journal*. 2019;11(35):49-52]. doi: 10.24411/2520-6990-2019-10309
11. Priyanka D, Shalini T, Navneet VK. A brief study on marigold (*Tagetes* species): a review. *International Research Journal of Pharmacy*. 2013;4(1):43-48.
12. Deepshikha K, Yashodhara V. Evaluation of Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Tagetes patula*. *Annual Research & Review in Biology*. 2017;13(6):1-8. doi: 10.9734/ARRB/2017/34349
13. Chervonnaya NM, Andreeva OA, Adzhikhmetova 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.). [Червоная Н.М., Андреева О.А., Аджиахметова С.Л., Оганесян Э.Т. О содержании фенольных соединений в соцветиях бархатцев распространенных (*Tagetes patula* L.). *Химия растительного сырья*. 2018;(3):91-98]. doi: 10.14258/jcprm.2018033714
14. Lomkina EM, Chervonnaya NM, Oganessian ET. Tyurenkov effect of French marigold extract on wound healing in diabetes mellitus. *Farmatsiya*. 2016;(3):37-39. (In Russ.). [Ломкина Е.М., Червоная Н.М., Оганесян Э.Т. Влияние экстракта бархатцев на заживление ран при сахарном диабете. *Фармация*. 2016;(3):37-39].
15. Moghaddam M, Pirbalouti AG, Babaei K, Farhadi N. Chemical Compositions of Essential Oil from the Aerial Parts of *Tagetes patula* L. and *Tagetes erecta* L. Cultivated in Northeastern Iran. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*. 2021;25(5):990-997. doi: 10.1080/0972060X.2021.2005691
16. Riaz M, Ahmad R, Rahman NU, et al. Traditional uses, Phytochemistry and pharmacological activities of *Tagetes Patula* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020;225:112718. doi: 10.1016/j.jep.2020.112718
17. Kurkina AV. *Flavonoids of pharmacopeia plants*. Samara, 2012. (In Russ.). [Куркина А.В. *Флавоноиды фармакопейных растений*. Самара, 2012]. ISBN: 978-5-473-00803-6

■ Автор для переписки

Куркина Анна Владимировна
Адрес: Самарский государственный медицинский университет;
ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

■ Corresponding Author

Anna V. Kurkina
Address: Samara State Medical University, 89 Chapayevskaya st.,
Samara, Russia, 443099.

E-mail: a.v.kurkina@samsmu.ru

ПОЛИ(L-ЛАКТИД-СО-ГЛИКОЛИД) И ШЕЛЛАК В РАЗРАБОТКЕ ФАЗОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ *IN SITU* ИМПЛАНТАТОВ

П.С. Сахарова, В.С. Пыжов, Е.О. Бахрушина

ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Москва, Россия)

Для цитирования: Сахарова П.С., Пыжов В.С., Бахрушина Е.О. Поли(L-лактид-со-гликолид) и шеллак в разработке фазочувствительных *in situ* имплантатов. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):51-57. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.51-57

■ Сведения об авторах

Сахарова П.С. – студентка Образовательного департамента Института фармации им. А.П. Нелюбина. ORCID: 0000-0003-4870-6232

E-mail: sakharova_p_s@student.sechenov.ru

Пыжов В.С. – студент Образовательного департамента Института фармации им. А.П. Нелюбина. ORCID: 0000-0003-2174-7157

E-mail: pyzhov_v_s@student.sechenov.ru

Бахрушина Е.О. – канд. фарм. наук, доцент, доцент кафедры фармацевтической технологии Института фармации им. А.П. Нелюбина.

ORCID: 0000-0001-8695-0346 E-mail: bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru

Рукопись получена: 30.09.2022

Рецензия получена: 12.11.2022

Решение о публикации: 21.11.2022

■ Аннотация

Цель – рассмотреть потенциальную перспективность применения PLGA и шеллака для получения фазозависимых *in situ* имплантатов.

Материал и методы. Исследование проходило в два тура: I тур был посвящен оценке составов NMP-полимер, II тур – оценке составов NMP-полимер-ПЭГ. В работе использовали PLGA с различными соотношениями лактидных и гликолидных звеньев (75:25, 50:50), отбеленный обезвоженный шеллак, N-метилпирролидон (NMP) в качестве растворителя, а также ПЭГ-1500 в концентрации 5% (масс/об) как сорастворитель. Экспериментальные составы содержали матрицеобразователи в концентрации 33%. Скрининг составов проводили по растворимости полимеров в NMP, гомогенности и проходимости через иглу полученной системы полимер-NMP, скорости образования имплантата в ходе жидкость-жидкостной экстракции в среде фосфатного буферного раствора (pH=6.8), а также морфологии имплантата. Скорость образования имплантата и диффузию красителя из систем доставки изучали также посредством разработанной ранее на базе лаборатории Института фармации им. А.П. Нелюбина *in vitro* агаровой модели десны.

Результаты. I тур исследований показал, что система NMP-PLGA (75:25) образует твердый имплантат за 1 час, а система NMP-шеллак – за 2 часа. Составы были положительно оценены по предъявленным критериям, несмотря на сильно различающиеся показатели объема диффузии – 1414 мкл для NMP-шеллак, 1065 мкл для NMP-PLGA (75:25), что говорит о возможности их использования без введения дополнительных вспомогательных веществ. NMP-PLGA(50:50) не полностью осадился по истечении критического времени (3 ч) и был признан нуждающимся в корректировке из-за недостаточной скорости образования имплантата.

Во II туре наблюдалась менее интенсивная диффузия красителя из имплантатов в агар (например, для NMP-PLGA(50:50) 641 мкл, а для NMP-PLGA(50:50)-ПЭГ 25 мкл), но вместе с тем положительная динамика по времени их осаждения как в среде фосфатного буфера (мгновенное осаждение без необходимости встряхивания), так и в *in vitro* агаровой модели десны (по истечении 3 часов состав NMP-PLGA(50:50)-ПЭГ в отличие от NMP-PLGA(50:50) образовал полутвердый имплантат).

Заключение. В ходе проведенных экспериментов в качестве наиболее перспективных для дальнейшей разработки фазочувствительного *in situ* стоматологического имплантата были отобраны составы NMP-шеллак и NMP-PLGA(75:25). Добавление ПЭГ было признано рациональным с точки зрения увеличения скорости осаждения имплантата и уменьшения начальной диффузии растворителя.

■ **Ключевые слова:** ПЛГА, шеллак, *in situ* технологии, N-метилпирролидон, имплантаты.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

POLY(L-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE) AND SHELLAC IN THE DEVELOPMENT OF PHASE-SENSITIVE *IN SITU* IMPLANTS

Polina S. Sakharova, Viktor S. Pyzhov, Elena O. Bakhrushina

Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia)

Citation: Sakharova PS, Pyzhov VS, Bakhrushina EO. Poly(L-lactide-co-glycolide) and shellac in the development of phase-sensitive *in situ* implants. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2022;22(4):51-57. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.51-57

■ Information about authors

Polina S. Sakharova – a student of Educational department, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin. ORCID: 0000-0003-4870-6232

E-mail: sakharova_p_s@student.sechenov.ru

Viktor S. Pyzhov – a student of Educational department, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin. ORCID: 0000-0003-2174-7157

E-mail: pyzhov_v_s@student.sechenov.ru

Elena O. Bakhrushina – PhD, Associate professor, Department of Pharmaceutical technology, Institute of Pharmacy named after A.P. Nelyubin.

ORCID: 0000-0001-8695-0346 E-mail: bakhrushina_e_o@staff.sechenov.ru

Received: 30.09.2022

Revision Received: 12.11.2022

Accepted: 21.11.2022

■ Abstract

Aim – to consider the potential prospects of using Poly(*l*-lactide-*co*-glycolide) (PLGA) and shellac to obtain phase-dependent *in situ* implants.

Material and methods. The study required two stages: stage I was the evaluation of NMP-polymer compositions, and stage II was the evaluation of NMP-polymer-PEG compositions. We used PLGA with various ratios of lactide and glycolide units (75:25, 50:50), dewaxed bleached shellac, N-methylpyrrolidone (NMP) as a solvent, and PEG-1500 at a concentration of 5% (wt/vol) as a co-solvent. The experimental formulations contained matrix formers at a concentration of 33%. The formulations were screened for polymer solubility in NMP, homogeneity and permeability through the needle of the resulting polymer-NMP system, the implant formation rate during the liquid-liquid extraction in a phosphate buffer solution (pH=6.8), and the implant morphology. The rate of implant formation and the diffusion of the dye from the delivery systems were also studied using the *in vitro* agar gingiva model, previously developed in the laboratory of the A.P. Nelyubin Institute of Pharmacy.

Results. The first stage of the study showed that the NMP-PLGA system (75:25) formed a solid implant in 1 hour, and the NMP-shellac system – in 2 hours. The formulations were positively assessed according to the presented criteria, despite the very different diffusion volumes – 1414 µl for NMP-shellac and 1065 µl for NMP-PLGA (75:25) – which indicates the possibility of their use without the introduction of additional excipients. The NMP-PLGA system (50:50) had not completely precipitated after the critical time (3 hours) and was considered as requiring an adjustment due to the insufficient implant formation rate.

In the stage II, a less intense diffusion of the dye from the implants into agar was observed. For example, for NMP-PLGA(50:50) – 641 µl, and for NMP-PLGA(50:50)-PEG – 25 µl. At the same time, there was the positive dynamics in the time of their precipitation both in phosphate buffer medium (instantaneous precipitation without the need for shaking) and in the *in vitro* agar gingiva model – after 3 hours, the composition of NMP-PLGA (50:50)-PEG, in contrast to NMP-PLGA (50:50), had formed a semi-solid implant.

Conclusion. In the course of the experiments, the compositions of NMP-shellac and NMP-PLGA (75:25) were selected as the most promising for further development of a phase-sensitive *in situ* dental implant. The addition of PEG was found to be rational in terms of increasing the rate of implant precipitation and reducing the initial diffusion of the solvent.

■ **Keywords:** PLGA, shellac, *in situ* technologies, N-methylpyrrolidone, implants.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

ВВЕДЕНИЕ

In situ технологии позволяют разрабатывать имплантаты нового поколения – биodeградируемые, вводимые без операционного вмешательства, путем направленной инвазии. Такие системы доставки позволяют обеспечивать длительный эффект с минимальными болезненными ощущениями при введении у пациента, что существенно повышает комплаенс к проводимой терапии.

In situ образуемые системы доставки принимают свою окончательную лекарственную форму на месте введения. Фазовый переход, лежащий в основе их формирования, потенцируется различными физическими, химическими, в том числе биохимическими, патологическими или физиологическими стимулами. Одним из наиболее изученных стимулов является смена растворителя – жидкость-жидкостная экстракция раствора матрицеобразующего полимера в индифферентном растворителе в среде физиологической жидкости в месте введения. Подобные системы доставки в научной литературе принято называть «фазочувствительными».

В настоящее время применение фазочувствительных *in situ* систем востребовано в различных медицинских отраслях – стоматологии, оториноларингологии [1–3]. Активно развивается и направление внутриопухолевой (интратуморальной) имплантации [4]. Постоянство потенцирования, основанного на базовом физическом процессе диффузии, делает фазочувствительные *in situ* системы наиболее надежными и стабильными среди прочих селективных *in situ* композиций.

В формировании матрицы фазочувствительной *in situ* системы важную роль играет растворитель. Для сравнительной оценки популярности

использования различных растворителей в разработке *in situ* имплантатов были проанализированы более 50 экспериментальных исследований. Согласно проведенному анализу публикаций, выполненному по базе научных медицинских публикаций PubMed, результаты которого представлены на **рисунке 1**, лидирующие позиции занимают растворители «золотого стандарта» N-метилпирролидон (N-methylpyrrolidone, NMP) и диметилсульфоксид (dimethyl sulfoxide, DMSO), а также смесь бензилбензоата и бензилового спирта (benzyl benzoate and benzyl alcohol, BB&BA) и 2-пирролидон (2-pyrrolidone, 2-P). Реже в качестве растворителей используются ПЭГи различной молекулярной массы, триацетин (triacetin, TA), гликофуrol, соляные бензилбензоат и бензиловый спирт, этиллактат, пропиленкарбонат, триэтилцитрат и другие. Исследователями рассматриваются как моnorазтворители, так и комбинации, где самостоятельный растворитель может выполнять роль соразтворителя. Так, TA и ПЭГи довольно часто выступают в роли соразтворителей в составах с NMP и DMSO.

Обзор базы данных научных публикаций PubMed с 1994 по 2017 гг. показал, что наиболее востребованным в технологии *in situ* фазочувствительных систем является сополимер молочной и гликолевой кислот, называемый в литературе PLGA (полилактид-согликолид). После анализа различных статей был сделан вывод, что в сфере применения фазочувствительных полимеров в медицине как систем доставки лекарственных веществ на долю PLGA приходится примерно 65–66% разработок [5–28]. Вдвое меньшую долю применения имеет гомополимер молочной кислоты полилактид (PLA). Остальные системы доставки состоят из таких полимерных матриц, как плюроники, поликапролактон, метиловый эфир

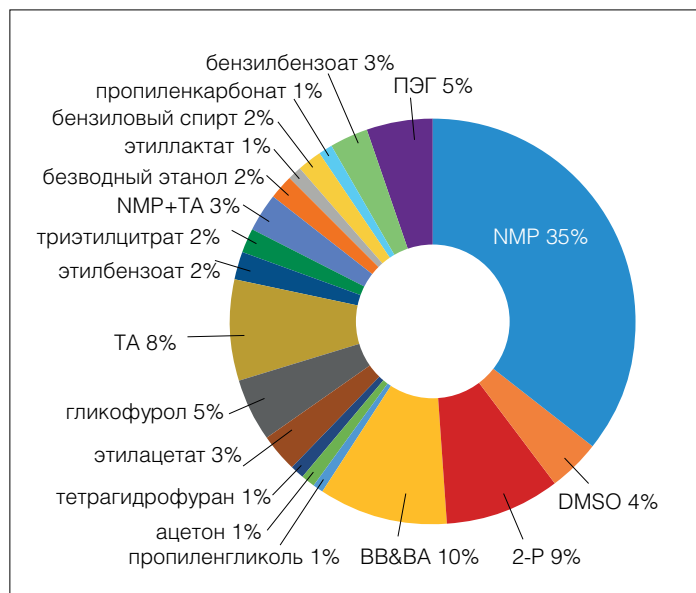


Рисунок 1. Популярность использования различных растворителей в разработке *in situ* имплантатов.

Figure 1. The use of various solvents in the development of *in situ* implants.

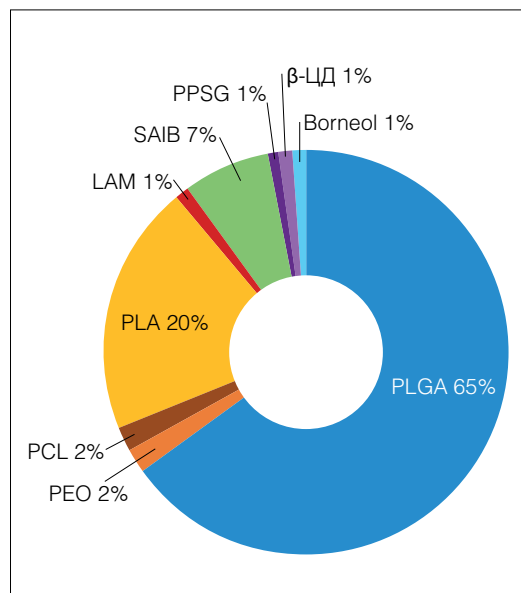


Рисунок 2. Частота использования различных полимеров в системах доставки ЛВ.

Figure 2. Frequency of use of various polymers in drug delivery systems.

Н-лауроил-L-аланина, изобутират ацетата сахарозы, борнеол и иные полимеры. Результаты анализа публикаций представлены на **рисунке 2**.

PLGA (**рисунк 3**) представляет собой линейный алифатический сополимер, полученный при блок-сополимеризации взятых в различных соотношениях составляющих его мономеров, молочной кислоты (LA) и гликолевой кислоты (GA). Он может быть синтезирован с любым соотношением LA и GA, а его молекулярная масса (Mw) находится в широком диапазоне от менее 10 000 до 200 000 Да.

Соотношение LA:GA напрямую влияет на свойства конечного полимера. Полимеры растворимы в широком диапазоне растворителей: дихлорметане, тетрагидрофуране, этилацетате, хлороформе, гексафтор-изопропанол, ацетоне и бензиловом спирте и других. Они имеют более высокую кинетику деградации, чем их гомополимеры, PLA или PGA по отдельности. Аморфные формы демонстрируют низкую механическую устойчивость, что позволяет эффективно их использовать при создании систем доставки лекарств, так как такая форма дает лучшее распределение активного компонента в полимерной матрице [8, 12, 13].

Помимо полимеров, уже применяемых в различных системах доставки и встречающихся в различных биомедицинских исследованиях, внимания также заслуживают некоторые вещества, которые используются в пищевой технологии. Одним из таких веществ является шеллак, полимер природного происхождения, одобренный FDA и используемый как пищевая добавка E904 [29].

Шеллак представляет собой амфифильную биомакромолекулу с характерной молекулярной структурой, состоящую из эфиров алевритовой

($C_{16}H_{32}O_5$) и шеллоновой ($C_{15}H_{20}O_5$) жирных кислот (**рисунк 4**). Шеллак предложен к использованию в качестве матрицы фазочувствительных *in situ* систем в последних работах группы тайских исследователей [29].

ЦЕЛЬ

Сравнительная оценка перспективности применения поли(*l*-лактида-со-гликолида) с различными соотношениями лактида и гликолида, а также отбеленного обезвоженного шеллака в комбинации с ПЭГ-1500 и без него для разработки стоматологического *in situ* имплантата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании в качестве фазозависимых матрицеобразователей использовали образцы поли(*l*-лактида-со-гликолида) с соотношением молочной и гликолевой кислот 75:25 и 50:50 (оба ООО «ЦМХ»,

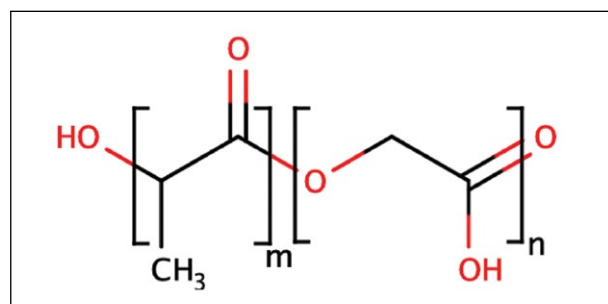


Рисунок 3. Структура ПЛГА: m – количество фрагментов молочной кислоты; n – количество фрагментов гликолевой кислоты.

Figure 3. PLGA structure: m - the number of lactic acid fragments, n - the number of glycolic acid fragments.

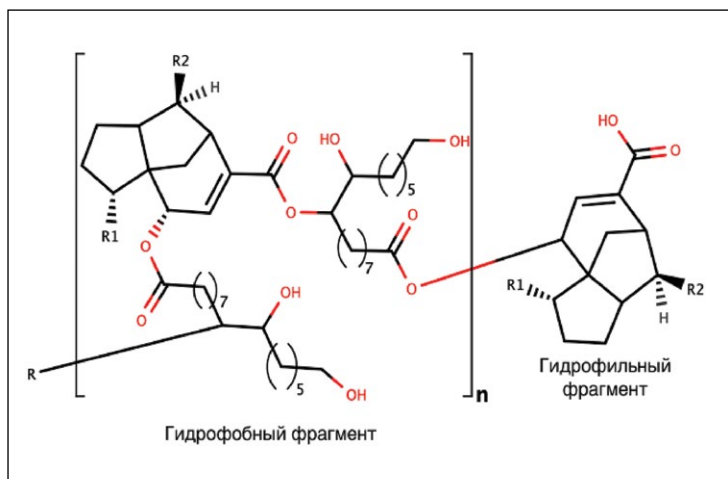


Рисунок 4. Структура шеллака.

	R1	R2	
Яларовая к-та	-CHO	-CH ₂ OH	R – звенья полимера; n – количество звеньев полимера
Шелловая к-та	-COOH	-CH ₂ OH	
Лакшоловая к-та	-CH ₂ OH	-CH ₂ OH	
Лакцигаларовая к-та	-CHO	-CH ₃	
Лакцишелловая к-та	-COOH	-CH ₃	
Лакцилакшоловая к-та	-CH ₂ OH	-CH ₃	

Figure 4. Shellac structure.

	R1	R2	
Jaloric acid	-CHO	-CH ₂ OH	R – polymer units; n – number of polymer units
Shellolic acid	-COOH	-CH ₂ OH	
Laksholic acid	-CH ₂ OH	-CH ₂ OH	
Laccijaloric acid	-CHO	-CH ₃	
Laccishellolic acid	-COOH	-CH ₃	
Laccilaksholic acid	-CH ₂ OH	-CH ₃	

Россия), (рисунок 3); шеллак DBS натуральный (ООО «Русский Химик», Россия), (рисунок 4). В качестве растворителя был выбран N-метилпирролидон (ООО «РеаХимЛаб», Россия), в качестве соразтворителя – ПЭГ-1500 (Plurol E 1500, BASF) в концентрации 5% (масс/об).

Для оценки полученных фазочувствительных *in situ* систем было предложено использовать следующие параметры: простоту получения и устойчивость раствора полимера в NMP (длительность и интенсивность нагревания, необходимую мощность ультразвукового воздействия для растворения, седиментационную устойчивость), гомогенность и проходимость через иглу полученной системы полимер-NMP, скорость образования имплантата в ходе жидкость-жидкостной экстракции в среде фосфатного буферного раствора (pH=6.8), а также морфологию имплантата; скорость образования имплантата и диффузию красителя из систем доставки, изучаемую на *in vitro* агаровой модели десны [30].

На первом этапе исследований растворы полимеров в NMP (33% масс/об) получали по следующей методике: на аналитических весах отweighивали необходимое количество полимера и вносили в пробирки типа Эппендорф, заранее наполненные соответствующими

объемами растворителя. Для ускорения процесса использовали нагревание составов до температуры 37°C и сопутствующую обработку ультразвуковыми волнами. В составы, получаемые на втором этапе исследований, также добавляли ПЭГ-1500 в концентрации 5% (масс/об). Седиментационную устойчивость определяли путем отстаивания полученных растворов в течение трех суток с последующей оценкой гомогенности и прозрачности. Гомогенность и прозрачность растворов оценивали визуально. Для теста на проходимость через иглу использовали шприцы инъекционные трехкомпонентные 1 мл U-40 однократного применения с несъемной иглой 29G (0,33 x 12,7) SFM (Германия).

Скорость образования имплантата оценивали в два этапа. На более раннем из этапов проводили жидкость-жидкостную экстракцию в среде фосфатного буфера. При этом в 3 пробирки типа Эппендорф, каждая из которых была заполнена 1 мл фосфатного буфера с pH=6.8, имитирующего слюнную жидкость, одноканальным дозатором Thermo Fisher Scientific (ЗАО «Термо Фишер Сайентифик», Россия) вводили по 250 мкл растворов каждого из полимеров в NMP и визуально наблюдали динамичность осаждения. Для более точной оценки скорости застывания имплантата в зубной лунке, а также определения показателя диффузии использовали разработанную ранее на базе Института фармации им. А.П. Нелюбина *in vitro* модель [30]. Агаровая модель десны представляет собой необходимое в рамках эксперимента количество агаровых блоков с заранее сформированными зубными лунками, по глубине, объему и форме полости идентичными лунке, образующейся после удаления среднего размера двухкорневого зуба.

Основной принцип определения параметра диффузии основан на способности NMP экстрагироваться в агар, имитирующий мягкие ткани десны. Добавление в NMP индифферентного красителя позволяет визуально оценить скорость движения фронта растворителя в мягкие ткани, объем его распределения и вместе с тем предсказывать интенсивность высвобождения растворенного действующего вещества из системы доставки. В данном исследовании при определении в каждом из туров использовалось по 15 лунок (по 5 для каждой из систем с целью получения статистически корректных результатов). Предварительно растворы окрашивали с помощью красителя пищевого 07 красного (Kreda Decor, Россия). В лунки заливали по 400 мкл приготовленных гомогенных составов с помощью дозатора одноканального Thermo Scientific Thermo Fisher Scientific (ЗАО «Термо Фишер Сайентифик», Россия), определяли время образования

нерастворимого имплантата из раствора и оценивали объем распределения окрашенного растворителя по поперечному срезу агарового блока.

С целью более точной и корректной оценки, а также математического выражения интенсивности диффузии растворителя из вводимого имплантата в агаровую модель десны использовалось 3D-моделирование в программе Tinkercad (© 2022 Autodesk, Inc, All Rights Reserved). Для этого линейно измеряли область диффузии и вводили полученные данные в программу, где по заданным параметрам строились идентичные геометрические фигуры, сравнительные объемы которых соответствовали более или менее полной диффузии растворителя в окружающую полость.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследования анализировались системы состава NMP-полимер. При определении растворимости полимера в NMP было отмечено, что для полного растворения навески PLGA (50:50) потребовалось минимальное количество времени (15 мин). Гомогенный раствор с содержанием шеллака образовывался через 30 мин после погружения состава в ультразвуковую ванну и подключения ультразвука. Растворение PLGA (75:25) оказалось наиболее длительным и трудоемким процессом – 60 мин в ультразвуковой ванне с дополнительным механическим измельчением полимера. Все образцы также успешно прошли испытания на седиментационную устойчивость.

Содержимое каждой из пробирок соответствовало заданным критериям оценки по параметрам гомогенности и прозрачности. Однако полученные системы полимер-NMP существенно отличались по проходимости через иглу, что связано с различной молекулярной массой растворенных полимеров и, следовательно, вязкостью полученных растворов. Так, для NMP-PLGA (75:25), как для системы с полимером, имеющим максимальную молекулярную массу (~52700 Да), было выявлено максимальное сопротивление при прохождении через иглу, а для NMP-PLGA (50:50), напротив, минимальное.

При проведении предварительного теста на скорость образования имплантата наблюдался фазовый переход полимера из растворенного в осажденное состояние при попадании составов в среду фосфатного буфера во всех трех случаях. При этом для систем NMP-PLGA (75:25) и NMP-шеллак этот переход был моментальным (от 1 до 5 с), а составу NMP-PLGA (50:50) на образование нерастворимой матрицы потребовалось около 5 мин и плавное встряхивание пробирки.

Введение ПЭГ-1500 на параметрах растворимости составов не отразилось. Растворы полимеров в NMP получали по аналогичным ранее описанным методам. Полученные растворы были седиментационно устойчивы, гомогенны и прозрачны. При прохождении через иглу максимальное сопротивление

соответствовало составу NMP-PLGA (75:25)-ПЭГ, наименьшее – составу NMP-PLGA (50:50)-ПЭГ.

Бесомое различие между составами с применением ПЭГ в качестве сорастворителя и не содержащих его было отмечено на этапе оценки скорости образования имплантата при жидкость-жидкостной экстракции в среде фосфатного буфера (предварительный тест на скорость образования имплантата). Состав NMP-PLGA (50:50)-ПЭГ, в отличие от NMP-PLGA (50:50), продемонстрировал мгновенное (менее 5 с) осаждение при попадании в среду фосфатного буфера.

В ходе основного эксперимента, направленного на измерение скорости образования имплантата в условиях, близких к физиологическим, обнаружено, что в полости агаровой лунки NMP-PLGA (75:25) образует нерастворимую в воде матрицу уже по истечении 1 часа, как и NMP-PLGA (75:25)-ПЭГ, NMP-шеллак, как и NMP-шеллак-ПЭГ, полностью осаждается через 2 часа. К 3 часам выдерживания система NMP-PLGA (50:50)-ПЭГ продемонстрировала неполное осаждение, однако образовался внешний каркас, благодаря наличию которого имплантат удалось извлечь из лунки. Состав NMP-PLGA (50:50) не удалось извлечь из-за неполной диффузии растворителя и частичного осаждения формы даже после 3 часов инкубирования (**рисунок 5**). Дальнейшее выдерживание было решено считать неэффективным, так как более длительный период осаждения недопустим для данной *in situ* образуемой системы.

По истечении 3 часов были сделаны поперечные срезы агаровых блоков. Согласно визуальной оценке, наименьший объем распределения растворителя среди систем полимер/растворитель дал состав NMP-PLGA (50:50), что коррелирует с его неокончательным осаждением по истечении отведенного времени; средний объем распределения был выявлен у NMP-PLGA (75:25), наибольший – у системы NMP-шеллак. Среди составов с добавлением сорастворителя была отмечена та же зависимость. Объем диффузии возрастает в ряду: NMP-PLGA (50:50)-ПЭГ, NMP-PLGA (75:25)-ПЭГ, NMP-шеллак-ПЭГ.

По результатам компьютерного 3D-моделирования были определены объемы диффузии изучаемых составов, а их значения соотнесены с временем осаждения и диффузии изучаемых образцов (таблица 1).

Предполагается, что меньший объем диффузии для составов с применением ПЭГ-1500 в качестве сорастворителя связан с его гидрофильными свойствами. При введении системы NMP-полимер-ПЭГ в агаровую модель десны ПЭГ образует дополнительную полимерную матрицу, которая одновременно способствует более быстрому осаждению имплантата и препятствует диффузии растворителя в окружающие ткани. Это свойство ПЭГ-1500 может оказаться полезным для дальнейшей разработки фазозависимых *in situ* стоматологических имплантатов, так как вместе с уменьшением диффузии растворителя уменьшится и высвобождение растворенного в нем действующего

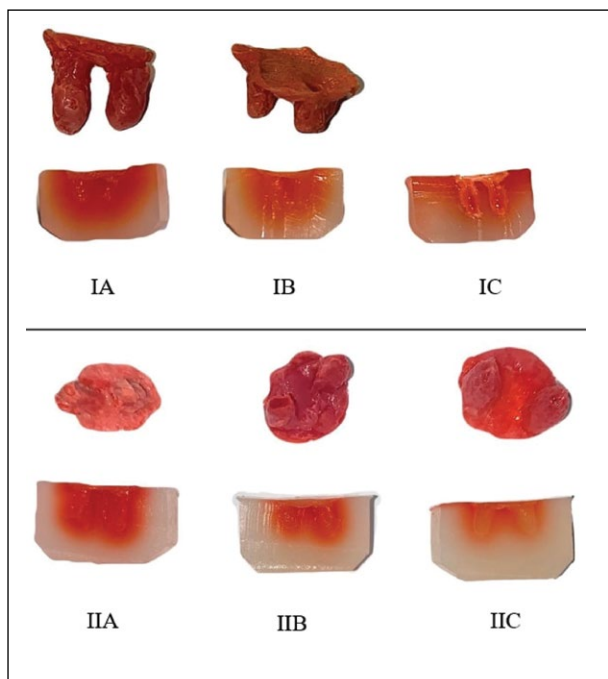


Рисунок 5. Сформированные имплантаты и поперечные срезы агаровых блоков после их изъятия. IA – NMP-шеллак, IB – NMP-PLGA (75:25), IC – NMP-PLGA (50:50); IIA – NMP-шеллак-ПЭГ, IIB – NMP-PLGA (75:25)-ПЭГ, IIC – NMP-PLGA (50:50)-ПЭГ.

Figure 5. Formed implants and cross sections of agar blocks after their removal. IA – NMP-shellac, IB – NMP-PLGA (75:25), IC – NMP-PLGA (50:50); IIA – NMP-shellac-PEG, IIB – NMP-PLGA (75:25)-PEG, IIC – NMP-PLGA (50:50)-PEG.

вещества в первые часы после введения, что является необходимым для пролонгации терапевтического эффекта, оказываемого лекарственной формой.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало перспективность использования шеллака и поли(*l*-лактидо-со-гликолида) с различными отношениями лактида к гликолиду в качестве матрицеобразующих компонентов в составе *in situ* стоматологических имплантатов. В результате экспериментов было выявлено, что система NMP-PLGA (75:25), как и система NMP-шеллак, может использоваться в качестве матрицеобразователя и без введения вспомогательных веществ. Оба состава были положительно оценены

по всем предъявленным критериям (проходимость через иглу, скорость образования имплантата, объем диффузии красителя), несмотря на различные показатели объема диффузии, тогда как состав NMP-PLGA (50:50) был признан нуждающимся в корректировке из-за недостаточной скорости образования имплантата на месте применения.

Также в ходе исследований была показана перспективность применения ПЭГ-1500 как соразстворителя в подобного рода системах. После добавления соразстворителя наблюдалась замедленная диффузия красителя из имплантата в агар, а также была замечена положительная динамика по времени их осаждения как в среде фосфатного буфера, так и в *in vitro* агаровой модели десны.

Таким образом, для продолжения работы по созданию оригинального отечественного препарата в форме *in situ* имплантата, предназначенного для введения в альвеолярную лунку, могут быть рекомендованы составы NMP-шеллак-ПЭГ и NMP-PLGA (75:25)-ПЭГ.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rein SMT, Lwin WW, Tuntarawongsa S, et al. Meloxicam-loaded solvent exchange-induced *in situ* forming beta-cyclodextrin gel and microparticle for periodontal pocket delivery. *Materials Science and Engineering C*. 2020;117:111275. doi: 10.1016/j.msec.2020.111275
2. Li Z, Mu H, Weng Larsen S, Jensen H, et al. An *in vitro* gel-based system for characterizing and predicting the long-term performance of PLGA *in situ* forming implants. *Int J Pharm*. 2021;609:121183. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.121183
3. Solorio L, Sundarapandian D, Olear A, et al. The Effect of Additives on the Behavior of Phase Sensitive *in Situ* Forming Implants. *J Pharm Sci*. 2015;104(10):3471-80. doi: 10.1002/jps.24558
4. Al-Abd AM, Hong KY, Song SC, et al. Pharmacokinetics of doxorubicin after intratumoral injection using a thermosensitive hydrogel in tumor-bearing mice. *Journal of Controlled Release*. 2010;142(1):101-7. doi: 10.1016/j.jconrel.2009.10.003
5. Tang Y, Singh J. Controlled delivery of aspirin: Effect of aspirin on polymer degradation and *in vitro* release from PLGA based phase sensitive systems. *Int J Pharm*. 2008;357(1-2):119-25. doi: 10.1016/j.ijpharm.2008.01.053
6. Ravivarapu HB, Moyer KL, Dunn RL. Sustained activity and release of leuprolide acetate from an *in situ* forming

Таблица 1 / Table 1

Зависимость времени осаждения имплантата и объема диффузии растворителя от состава
The influence of the composition on implant settling time and solvent diffusion volume

	Состав	Время осаждения в среде фосфатного буфера, с	Время осаждения в <i>in vitro</i> агаровой модели десны, ч	Объем диффузии, мкл
I тур	NMP-шеллак	5	2	1414
	NMP-PLGA (75:25)	3	1	1065
	NMP-PLGA (50:50)	60	-	641
II тур	NMP-шеллак-ПЭГ	3	2	751
	NMP-PLGA (75:25)-ПЭГ	1	1	236
	NMP-PLGA (50:50)-ПЭГ	4	3	25

- polymeric implant. *AAPS PharmSciTech*. 2000;1(1):3014-3026. doi: [10.1007/bf02830516](https://doi.org/10.1007/bf02830516)
7. Lambert WJ, Peck KD. Development of an *in situ* forming biodegradable poly-lactide-coglycolide system for the controlled release of proteins. *Journal of Controlled Release*. 1995;33(1):283-292. doi: [10.1016/0168-3659\(94\)00083-7](https://doi.org/10.1016/0168-3659(94)00083-7)
 8. Eliaz RE, Kost J. Characterization of a polymeric PLGA-injectable implant delivery system for the controlled release of proteins. *J Biomed Mater Res*. 2000;50(3):388-96. doi: [10.1002/\(SICI\)1097-4636\(20000605\)50:3<388::AID-JBM13>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(20000605)50:3<388::AID-JBM13>3.0.CO;2-F)
 9. McHugh AJ. The role of polymer membrane formation in sustained release drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*. 2005;109:211-21. doi: [10.1016/j.jconrel.2005.09.038](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.09.038)
 10. Dong WY, Körber M, López Esguerra V, et al. Stability of poly(*D,L*-lactide-co-glycolide) and leuprolide acetate in the *in situ* forming drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*. 2006;115(2):158-67. doi: [10.1016/j.jconrel.2006.07.013](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.07.013)
 11. Luan X, Bodmeier R. Influence of the poly(*L*-actide-co-glycolide) type on the leuprolide release from *in situ* forming microparticle systems. *Journal of Controlled Release*. 2006;110(2): 266-272. doi: [10.1016/j.jconrel.2005.10.005](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2005.10.005)
 12. Graham PD, Brodbeck KJ, McHugh AJ. Phase inversion dynamics of PLGA solutions related to drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 1999;58(2):233-245. doi: [10.1016/S0168-3659\(98\)00158-8](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(98)00158-8)
 13. Brodbeck KJ, DesNoyer JR, McHugh AJ. Phase inversion dynamics of PLGA solutions related to drug delivery: Part II. The role of solution thermodynamics and bath-side mass transfer. *Journal of Controlled Release*. 1999;62(3):333-344. doi: [10.1016/S0168-3659\(99\)00159-5](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00159-5)
 14. Kang F, Singh J. *In vitro* release of insulin and biocompatibility of *in situ* forming gel systems. *Int J Pharm*. 2005;304(1-2):83-90. doi: [10.1016/j.ijpharm.2005.07.024](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.07.024)
 15. Lu Y, Yu Y, Tang X. Sucrose acetate isobutyrate as an *in situ* forming system for sustained risperidone release. *J Pharm Sci*. 2007;96(12):3252-62. doi: [10.1002/jps.21091](https://doi.org/10.1002/jps.21091)
 16. Okumu FW, Dao LN, Fielder PJ, et al. Sustained delivery of human growth hormone from a novel gel system: SABERTM. *Biomaterials*. 2002;23(22):4353-4358. doi: [10.1016/S0142-9612\(02\)00174-6](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00174-6)
 17. Kranz H, Brazeau GA, Napaporn J, et al. Myotoxicity studies of injectable biodegradable *in situ* forming drug delivery systems. *Int J Pharm*. 2001;212(1):11-18. doi: [10.1016/S0378-5173\(00\)00568-8](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(00)00568-8)
 18. Rungseewijitprapa W, Brazeau GA, Simkins JW, et al. Myotoxicity studies of O/W-*in situ* forming microparticle systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008;69(1):126-33. doi: [10.1016/j.ejpb.2007.10.009](https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.10.009)
 19. Kranz H, Bodmeier R. A novel *in situ* forming drug delivery system for controlled parenteral drug delivery. *Int J Pharm*. 2007;332(1-2):107-14. doi: [10.1016/j.ijpharm.2006.09.033](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.09.033)
 20. Schoenhammer K, Petersen H, Guethlein F, et al. Poly(ethyleneglycol) 500 dimethylether as novel solvent for injectable *in situ* forming depots. *Pharm Res*. 2009; 26(12):2568-77. doi: [10.1007/s11095-009-9969-0](https://doi.org/10.1007/s11095-009-9969-0)
 21. Liu H, Venkatraman SS. Cosolvent effects on the drug release and depot swelling in injectable *in situ* depot-forming systems. *J Pharm Sci*. 2012;101(5):1783-1793. doi: [10.1002/jps.23065](https://doi.org/10.1002/jps.23065)
 22. Kapoor DN, Katore OP, Dhawan S. *In situ* forming implant for controlled delivery of an anti-HIV fusion inhibitor. *Int J Pharm*. 2012;426(1-2):132-143. doi: [10.1016/j.ijpharm.2012.01.005](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.01.005)
 23. Mashak A, Mobedi H, Ziaee F, et al. The effect of aliphatic esters on the formation and degradation behavior of PLGA-based *in situ* forming system. *Polymer Bulletin*. 2011;66(8):1063-1073. doi: [10.1007/s00289-010-0386-7](https://doi.org/10.1007/s00289-010-0386-7)
 24. Lin X, Yang S, Gou J, et al. A novel risperidone-loaded SAIB-PLGA mixture matrix depot with a reduced burst release: Effects of solvents and PLGA on drug release behaviors *in vitro* / *in vivo*. *J Mater Sci Mater Med*. 2012;23(2):443-55. doi: [10.1007/s10856-011-4521-2](https://doi.org/10.1007/s10856-011-4521-2)
 25. Wang L, Venkatraman S, Kleiner L. Drug release from injectable depots: Two different *in vitro* mechanisms. *Journal of Controlled Release*. 2004;99(2):207-16. doi: [10.1016/j.jconrel.2004.06.021](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.06.021)
 26. Wang K, Jia Q, Yuan J, et al. A novel, simple method to simulate gelling process of injectable biodegradable *in situ* forming drug delivery system based on determination of electrical conductivity. *Int J Pharm*. 2011;404(1-2):176-9. doi: [10.1016/j.ijpharm.2010.10.042](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.042)
 27. Kempe S, Metz H, Mäder K. Do *in situ* forming PLG/NMP implants behave similar *in vitro* and *in vivo*? A non-invasive and quantitative EPR investigation on the mechanisms of the implant formation process. *Journal of Controlled Release*. 2008;130(3):220-5. doi: [10.1016/j.jconrel.2008.06.006](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.06.006)
 28. Schoenhammer K, Petersen H, Guethlein F, et al. Injectable *in situ* forming depot systems: PEG-DAE as novel solvent for improved PLGA storage stability. *Int J Pharm*. 2009;371(1-2):33-9. doi: [10.1016/j.ijpharm.2008.12.019](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.12.019)
 29. Senarat S, Wai Lwin W, Mahadlek J, et al. Doxycycline hyclate-loaded *in situ* forming gels composed from bleached shellac, Ethocel, and Eudragit RS for periodontal pocket delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2021;29(3):252-263. doi: [10.1016/j.jsps.2021.01.009](https://doi.org/10.1016/j.jsps.2021.01.009)
 30. Sakharova PS, Bakhrushina EO, Krasnyuk II. *In vitro* modeling for the evaluation of biopharmaceutical parameters of phase inversion-based dental *in situ* implants. *Medical Pharm J Pulse*. 2022;8:31-35. (In Russ). [Сахарова П.С., Бахрушина Е.О., Краснюк И.И. *In vitro* моделирование для оценки биофармацевтических показателей фазозависимых стоматологических *in situ* имплантатов. Медико-фармацевтический журнал «Пультс». 2022;8:31-35]. doi.org/10.26787/nydha-2686-6838-2022-24-8-31-35

■ Автор для переписки

Сахарова Полина Сергеевна

Адрес: Сеченовский университет, пр. Вернадского, 96, корп. 1, г. Москва, Россия, 119571.

■ Corresponding Author

Polina S. Sakharova

Address: Sechenov University, 96/1 Vernadsky ave., Moscow, Russia, 119571.

E-mail: sakharova_p_s@student.sechenov.ru

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ НАКОПЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ ТРАВой ГОРЦА ПТИЧЬЕГО СИНАНТРОПНОЙ ФЛОРЫ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Ю.А. Селиванова, А.И. Сливкин, А.А. Вервикина, Н.А. Дьякова

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» (Воронеж, Россия)

Для цитирования: Селиванова Ю.А., Сливкин А.И., Вервикина А.А., Дьякова Н.А. Изучение особенностей накопления флавоноидов травой горца птичьего синантропной флоры Ростовской области. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2022;22(4):58-62. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.58-62

■ Сведения об авторах

Селиванова Ю.А. – аспирант, ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии.

ORCID: 0000-0002-1204-927X E-mail: u.a.selivanova@yandex.ru

Сливкин А.И. – д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии.

ORCID: 0000-0001-6934-0837 E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Вервикина А.А. – студентка 3 курса фармацевтического факультета. ORCID: 0000-0002-5971-1953 E-mail: alisa.vervikina@yandex.ru

Дьякова Н.А. – канд. биол. наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии.

ORCID: 0000-0002-0766-3881 E-mail: ninochka_v89@mail.ru

Рукопись получена: 29.09.2022

Рецензия получена: 07.11.2022

Решение о публикации: 11.11.2022

■ Аннотация

Цель – изучение особенностей накопления флавоноидов в траве горца птичьего синантропной флоры Ростовской области.

Материалы и методы. Для проведения исследований было выбрано несколько точек отбора образцов ЛРС в Морозовском районе Ростовской области. Заготовку травы горца птичьего проводили рядом с крупной автомагистралью М-21, нескоростной автомобильной дорогой с неживым движением и железнодорожной магистралью Северо-Кавказской железной дороги. Отбор образцов был проведен на расстоянии от 1 до 300 метров с шагом в 100 метров. Выбор территорий заготовки определен отсутствием точной и достоверной информации о накоплении биологически активных веществ в ЛРС в зависимости от удаленности от автомагистралей и железных дорог. Дополнительно проводили заготовку травы горца птичьего в экологически чистых местностях, которые находятся в значительной удаленности от объектов антропогенного воздействия (зоны контроля).

Результаты. Изучение растительного сырья, заготовленного вдоль нескоростной автомобильной дороги с неживым движением, показало наличие прямой зависимости по снижению содержания флавоноидов в пересчете на авикулярин при увеличении расстояния от транспортной магистрали. Результаты, полученные в ходе исследования образцов, заготовленных вдоль автомагистрали М-21 и железнодорожной магистрали, также отражают зависимость индукции фенольных соединений в ЛРС от его произрастания вблизи автомагистрали. Однако в условиях удаленности от источника антропогенного воздействия на 200 метров и более происходит снижение содержания флавоноидов, которое примерно равно их содержанию в сырье, заготовленном в контрольных зонах.

Выводы. Умеренное антропогенное воздействие, которое характеризуется выбросом в окружающую среду различных экотоксикантов, может индуцировать биосинтез флавоноидовых соединений.

■ **Ключевые слова:** горец птичий, флавоноиды, авикулярин.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

■ Список сокращений

ЛРС – лекарственное растительное сырье.

THE STUDY OF FLAVONOIDS ACCUMULATION BY THE HERB POLYGONUM AVICULARE OF THE SYNANTHROPIC FLORA OF THE ROSTOV REGION

Yuliya A. Selivanova, Aleksey I. Slivkin, Alisa A. Vervikina, Nina A. Dyakova

Voronezh State University (Voronezh, Russia)

Citation: Selivanova YuA, Slivkin AI, Vervikina AA, Dyakova NA. The study of flavonoids accumulation by the herb Polygonum aviculare of the synanthropic flora of the Rostov Region. *Aspirantskiy vestnik Povolzhya*. 2022;22(4):58-62. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.58-62

■ Information about authors

Yuliya A. Selivanova – a postgraduate student, an assistant of the Department of Pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology.

ORCID: 0000-0002-1204-927X E-mail: u.a.selivanova@yandex.ru

Aleksey I. Slivkin – PhD, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology.

ORCID: 0000-0001-6934-0837 E-mail: slivkin@pharm.vsu.ru

Alisa A. Vervikina – a 3rd-year student of the Faculty of Pharmacy. ORCID: 0000-0002-5971-1953 E-mail: alisa.vervikina@yandex.ru

Nina A. Dyakova – PhD, Associate professor, Department of Pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology.

ORCID: 0000-0002-0766-3881 E-mail: ninochka_v89@mail.ru

Received: 29.09.2022

Revision Received: 07.11.2022

Accepted: 11.11.2022

■ Abstract

Aim – to study the flavonoid accumulation peculiarities in the birdweed herb (Polygonum aviculare) harvested in the Rostov Region.

Material and methods. Several raw material sampling areas in the Morozovsky District of the Rostov Region were selected for

the study. The birdweed grass was harvested near a major highway M-21 (IA category), a low-speed road (IV category) with little traffic, and a railway line of the North Caucasus Railway. The sampling was conducted at distances from 1 to 300 meters at 100-meter intervals. The choice of harvesting areas was determined by the lack of accurate and reliable information on the accumulation of biologically active substances in the raw material depending on the distance from highways and railroads. In addition, we harvested the birdweed grass in ecologically clean areas far away from the objects of anthropogenic impact (control areas).

Results. The study of the plant raw material harvested along a low-speed road with little traffic revealed a direct correlation in the reduction of flavonoid content, in terms of avicularin, with increasing distance from the road. The results obtained in the study of samples harvested along the highway M-21 and the railway line also reflected the dependence of the induction of phenolic compounds in the raw material on its growth near the highway. However, in conditions of remoteness from a source of anthropogenic impact on 200 meters and more, there was a decrease in the content of flavonoids, which was approximately equal to their content in the raw material harvested in the control areas.

Conclusion. A moderate anthropogenic impact, which is characterized by the release of various ecotoxins into the environment, can induce the biosynthesis of flavonol compounds.

■ **Keywords:** birdweed, *Polygonum aviculare*, flavonoids, avicularin.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении многих столетий главным источником для производства лекарственных веществ являлось сырье природного происхождения [1]. В настоящее время также большое внимание уделяется развитию и применению лекарственных растительных средств, о чем свидетельствует тенденция расширения ассортимента отечественных фитопрепаратов. Это объясняется тем, что лекарственное растительное сырье (ЛРС) при довольно высокой фармакологической эффективности обладает меньшей токсичностью, не вызывает привыкания и редко вызывает аллергические реакции [2]. Значительная часть заготовок ЛРС происходит в европейской части России, которая характеризуется довольно высокой плотностью населения, активной хозяйственной деятельностью, а также развитием автомобильных и железнодорожных магистралей. В связи с этим все более актуальным и насущным становится вопрос о выявлении степени влияния антропогенного воздействия на химический состав ЛРС и возможности их сбора в различных регионах Российской Федерации [3].

Горец птичий (*Polygonum aviculare* L.) – это синантропный вид, сырье которого заготавливается от дикорастущих особей. Он представляет собой однолетнее травянистое растение высотой до 30 см, которое встречается как сорняк почти по всей территории России. Произрастает вдоль дорог, тропинок, на полях и огородах, по пустырям. Установлено, что горец птичий применяется в качестве диуретического средства, обладает камнеразрыхляющим и желчегонными свойствами [4]. При гематурии его используют в качестве кровоостанавливающего средства [5]. Известно также о вяжущем, спазмолитическом и противовоспалительном действии горца птичьего [6]. Столь широкое применение обусловлено довольно богатым химическим составом травы горца птичьего, преобладающей частью которого являются флавоноиды, среди которых преобладает авикулярин, а также аскорбиновая кислота, каротиноиды, фенолкарбоновые кислоты. Среди сопутствующих веществ выделяют соединения кремниевой кислоты и витамин К [4, 7].

Известно, что флавоноиды принадлежат к классу вторичных метаболитов растений, имеющих полифенольную структуру, которые вырабатываются в ответ на различные биотические и абиотические факторы. Биохимическая роль флавоноидов в растениях разнообразна: от цветочной пигментации до участия в процессах роста и защиты от болезней [8]. Важным и малоизученным фактором, который оказывает влияние на синтез вторичных метаболитов, является антропогенное воздействие на лекарственные растения. Особенную роль играет факт, что в ответ на увеличение антропогенной нагрузки индуцируется дополнительный синтез вторичных метаболитов, которые играют важную роль в адаптации растений к изменяющимся условиям. При этом установлено, что некоторые вторичные метаболиты, например, фенольные соединения, могут являться хелаторами и принимать участие в детоксикации загрязняющих веществ в растительном организме. Поэтому повышение их содержания является одной из неспецифических реакций на стрессовое воздействие окружающей среды [9, 10].

Ростовская область является важным поставщиком ЛРС Южного федерального округа России. На территории региона произрастает и заготавливается около 48 видов лекарственных растений из 23 семейств [11]. За последние 5 лет количество автомобильного транспорта в Ростовской области возросло, произошло заметное увеличение площади твердого покрытия дорог, что значительно повлияло на динамику антропогенной нагрузки на прилегающие территории [12]. В связи с мощным ростом количества автомобильного транспорта и охвата железнодорожного сообщения в рамках Ростовской области происходит сокращение площадей естественных экотопов и формирование эдафотипов растений, приспособившихся к антропогенной нагрузке. Поэтому исследование синантропной флоры региона является важным звеном в рассмотрении проблемы фармацевтической экологии ЛРС в целом.

ЦЕЛЬ

Изучение накопления флавоноидов в траве горца птичьего синантропной флоры Ростовской области на примере Морозовского района.

Таблица 1 / Table 1

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин в образцах травы горца птичьего (*Polygonum aviculare* L.), %
The total flavonoids content in terms of avicularin in the samples of birdweed (*Polygonum aviculare* L.), %

Район сбора	Расстояние удаленности от дорог			
	0 м	100 м	200 м	300 м
Железнодорожная магистраль Северо-Кавказской железной дороги	3,01±0,02	2,29±0,01	1,81±0,03	1,20±0,01
Нескоростная автомобильная дорога (IV категории)	3,04±0,02	2,67±0,02	1,56±0,01	1,16±0,02
Автомagистраль М-21 (IA категории)	1,01±0,02	1,62±0,01	1,92±0,03	1,22±0,01
Контроль 1	1,19±0,02			
Контроль 2	1,33±0,03			
Числовой показатель по ФС не менее 0,5%				

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения исследований было выбрано несколько точек отбора образцов ЛРС в Морозовском районе Ростовской области (рисунок 1). Заготовку травы горца птичьего проводили рядом с крупной автомагистралью М-21 (IA категории), нескоростной автомобильной дорогой (IV категории) с неживленным движением и железнодорожной магистралью Северо-Кавказской железной дороги. Отбор образцов был проведен на расстоянии от 1 до 300 метров с шагом в 100 метров. Выбор территорий заготовки определен отсутствием точной и достоверной информации о накоплении биологически активных веществ в ЛРС в зависимости от удаленности от автомагистралей и железных дорог. Дополнительно проводили заготовку травы горца птичьего в экологически чистых местностях, которые находятся в значительной удаленности от объектов антропогенного воздействия (зоны контроля).

Сбор и сушку травы горца птичьего проводили по всем правилам заготовки лекарственного растительного сырья, во время цветения растения, в сухую погоду (конец июня – начало июля 2021 года), срезая надземную часть растения ножом или серпом. Определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин в собранных образцах травы горца птичьего вели по стандартной фармакопейной методике [13] на спектрофотометре СФ-2000. Каждое определение проводили трехкратно. Данные,

полученные в ходе исследований, статистически обрабатывали с помощью программы Microsoft Excel при доверительной вероятности 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные значения содержания суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин в траве горца птичьего приведены в таблице 1 и на рисунке 2.

По результатам проведенных исследований все собранное лекарственное растительное сырье горца птичьего удовлетворяет требованиям ГФ XIV по содержанию флавоноидов в пересчете на авикулярин [13].

ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание флавоноидов в пересчете на авикулярин в траве горца птичьего в экологически чистом месте произрастания составило 1,19–1,33%, что примерно в 2,5 раза превышает нижнее числовое значение, приведенное в ГФ XIV. Для исследуемых образцов придорожной зоны заготовки содержание исследуемой группы фенольных соединений варьирует в диапазоне от 1,01% до 3,04%. В большей части образцов, заготовленных на удалении 0–200 м, содержание флавоноидов в пересчете на авикулярин на 20–125% выше, чем в образцах контрольных зон и в 1,2–2,5 раза больше установленного фармакопейной статьей нижнего значения. Полученные результаты можно объяснить биохимическим механизмом приспособления растения к воздействию стресса из окружающей среды, в ответ на который в данном случае происходит индукция синтеза флавоноидов, которые могут служить хелато-рами и участвовать в детоксикации экотоксикантов наравне с аминокислотами, органическими кислотами и пептидами [9, 14]. Поэтому в стрессорных условиях растительные клетки реагируют повышением активности фенилаланинаммиакилазы, 4-гидроксилазы транскоричной кислоты, пероксидазы и других ферментов. Это сопровождается ростом новообразования фенольных соединений, в частности флавонолов, по шикиматному пути биосинтеза [15].

Полученные результаты сравнили с данными по ранее проведенному сходному исследованию накопления флавоноидов в траве горца птичьего, собранного в Воронежской области (таблица 2) [16].

Все анализируемое сырье травы горца птичьего, заготовленное в Воронежской области, является



Рисунок 1. Карта отбора образцов травы горца птичьего.

Figure 1. Map of birdweed grass sampling.

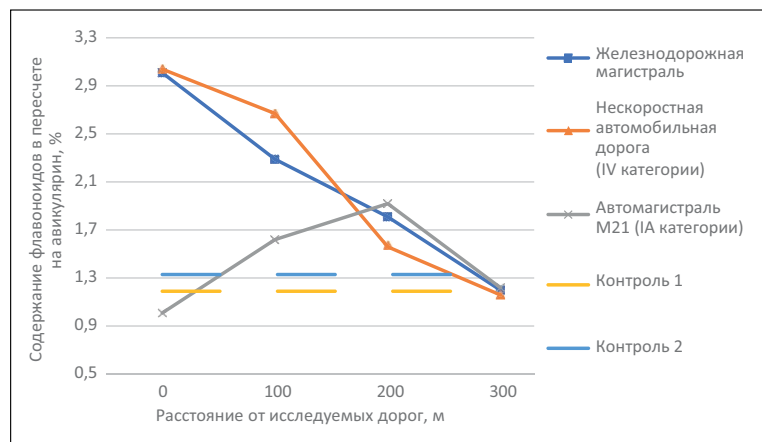


Рисунок 2. Содержание флавоноидов в пересчете на авикулярин в траве горца птичьего синантропной флоры Морозовского района Ростовской области.

Figure 2. The flavonoids content in terms of avicularin in the herb birdweed of the synanthropic flora of Morozovsky district, the Rostov region.

соответствующим требованиям нормативной документации по содержанию флавоноидов в пересчете на авикулярин. Образцы, собранные на трех контрольных (заповедных) территориях, содержат данную группу биологически активных веществ в среднем в 3–3,2 раза больше нижнего числового значения, приведенного в фармакопейной статье [16].

В образцах травы горца птичьего, заготовленной на удалении 300 метров от исследуемых автомагистралей Ростовской области, концентрация флавоноидов приближалась к числовым значениям для ЛРС, заготовленных на контрольных территориях. Идентичный результат наблюдается в образцах горца птичьего, заготовленных рядом с автотрассами в Воронежской области [16]. Несомненно, удаленность от источника загрязнения и уменьшение влияния стрессовых факторов на растение оказывает влияние на биосинтез полифеноловых соединений, концентрация которых постепенно снижается и приходит в соответствие с экологически чистыми территориями, лишенными антропогенного воздействия.

Наиболее низкий уровень накопления флавоноидов в пересчете на авикулярин отмечен в образце травы горца птичьего, заготовленной вдоль автомобильной трассы М-21. В Воронежской области наиболее низкий уровень накопления флавоноидов отмечен

взвешенных в воздухе веществ (пыли), выхлопных газов, высокое переуплотнение почв и загрязнение их различными экотоксикантами) в данном случае вызывает не активацию антиоксидантной системы, а, напротив, угнетение ферментных систем в растении, которое выходит за пределы выносливости вида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примере травы горца птичьего изучено накопление флавоноидов в пересчете на авикулярин синантропной флоры Ростовской области. Изучение ЛРС, заготовленного на установленных расстояниях от железной дороги и нескоростной автомобильной дороги (IV категории) с неживым движением, показало прямое влияние увеличения расстояния от транспортной магистрали на снижение флавоноидов. Опираясь на проведенные исследования, можно сделать вывод, что умеренное антропогенное воздействие, которое характеризуется выбросом в окружающую среду различных экотоксикантов и высоким содержанием в воздухе взвешенных веществ, может индуцировать синтез полифенольных соединений. Однако в других условиях стоит учитывать воздействие комплексного токсического стресса, который влечет за собой угнетение антиоксидантной системы растений и как следствие, подавление выработки

Таблица 2 / Table 2

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на авикулярин в образцах травы горца птичьего (*Polygonum aviculare* L.) Воронежской области, % (данные на 2020 год)

The total flavonoids content in terms of avicularin in herb samples of *Polygonum aviculare* L. in the Voronezh region, % (data for 2020)

Район сбора	Расстояние удаленности от дорог			
	0 м	100 м	200 м	300 м
Железнодорожная магистраль Юго-Восточной железной дороги	0,84±0,03	0,93±0,03	1,02±0,02	1,01±0,02
Нескоростная автомобильная дорога (IV категории)	0,94±0,03	1,13±0,04	1,20±0,01	1,31±0,02
Автомагистраль М-4 (IA категории)	0,70±0,01	0,67±0,01	0,82±0,02	1,19±0,01
Контроль 1	1,61±0,03			
Контроль 2	1,52±0,02			
Контроль 3	1,48±0,03			
Числовой показатель по ФС не менее 0,5%				

фенольных соединений. Данные выводы коррелируют с исследованиями, проведенными на примере травы горца птичьего, заготовленной в идентичных условиях в Воронежской области, что позволяет судить о выявлении общих закономерностей индукции и ингибирования биосинтеза флавоноидных соединений в различных экотопах существования растений.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bryntseva IA, Samotruueva MA, Tsibizova AA. Rational use of Astrakhan sulfide and silt mud of the "Lake "Lechebnoe" deposit. *International J of Experimental Education*. 2013;11-1:183-184. (In Russ.). [Брынцева И.А., Самотруева М.А., Цибизова А.А. Рациональное использование астраханской сульфидно-иловой грязи месторождения «Озеро «Лечебное». *Международный журнал экспериментального образования*. 2013;11-1:183-184].
2. Samotruueva MA, Tsibizova AA, Yasenyavskaya AL, et al. Pharmacological activity of pyrimidine derivatives. *Astrakhan Medical J*. 2015;10;1:12-29. (In Russ.). [Самотруева М.А., Цибизова А.А., Ясеньявская А.Л., и др. Фармакологическая активность производных пиримидинов. *Астраханский медицинский журнал*. 2015;10;1:12-29].
3. D'yakova NA, Gaponov SP, Slivkin AI, et al. Study of features of accumulation of flavonoids by grass of bitter pollen collected in various urban and agrobiocenoses of the Voronezh region. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry*. 2020;23(7):15-21. (In Russ.). [Дьякова Н.А., Гапонов С.П., Сливкин А.И., и др. Изучение особенностей накопления флавоноидов травой полыни горькой, произрастающей в различных урбо- и агробиоценозах Воронежской области. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2020;23(7):15-21]. doi: 10.29296/25877313-2020-07-03
4. Kurkin VA. *Pharmacognosy*. Samara, 2004. (In Russ.). [Куркин В.А. *Фармакогнозия*. Самара, 2004]. ISBN 5-473-00062-2
5. Khadartseva AV. Analysis of medicinal plants containing flavonoids (water-pepper, *Persicaria maculosa*, birdweed). In: Young Scientists in Solving Current Problems of Science. 2021;133-136. (In Russ.). [Хадартцева А.В. Анализ лекарственных растений, содержащих флавоноиды (горец перечный, горец почечуйный, горец птичий). В кн.: Молодые ученые в решении актуальных проблем науки. 2021;133-136].
6. Dibirova MD, Bogaeva VS. Comparative analysis of biologically active substances in the herb of birdweed and water-pepper. In: *Pharmaceutical Education, Science and Practice: Horizons of Development*. 2016;463-465. (In Russ.). [Дибирова М.Д., Богаева В.С. Сравнительный анализ биологически активных веществ в траве горца птичьего и горца водяного. В кн.: Фармацевтическое образование, наука и практика: горизонты развития. 2016;463-465].
7. Velikanova NA, Slivkin AI, Gaponov SP. Features of accumulation of the flavonoids in the grass of *Polygonum aviculare*, collected in various environmental terms territories of Voronezh city and its surroundings. *Vestnik VSU. Series: Chemistry, Biology, Pharmacy*. 2013;1:181-185. (In Russ.). [Великанова Н.А., Сливкин А.И., Гапонов С.П. Изучение накопления флавоноидов травой горца птичьего, собранного в разных с экологической точки зрения районах города Воронежа и его окрестностей. *Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация*. 2013;1:181-185].
8. Kurkin VA, Kurkina AV, Avdeeva EV. The flavonoids as biologically active compounds of medicinal plants. *Basic Research*. 2013;11-9:1897-1901. (In Russ.). [Куркин В.А., Куркина А.В., Авдеева Е.В. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений. *Фундаментальные исследования*. 2013;11-9:1897-1901].
9. Bayandina II, Zagurskaya YuV. The relationship of secondary metabolism and chemical elements in medicinal plants. *Siberian Medical J*. 2014;8:107-111. (In Russ.). [Баяндина И.И., Загурская Ю.В. Взаимосвязь вторичного метаболизма и химических элементов в лекарственных растениях. *Сибирский медицинский журнал*. 2014;8:107-111].
10. Velikanova NA. Ecological analysis of soils and medicinal plant material (grass of birdweed and plantain leaf) on the content of heavy metals and pesticides in Voronezh and its surroundings. *Proceedings of the Young Scientists of Voronezh State University*. 2012;1-2:17-22. (In Russ.). [Великанова Н.А. Экологический анализ состояния почв и лекарственного растительного сырья (травы горца птичьего и листьев подорожника большого) по содержанию тяжелых металлов и пестицидов в городе Воронеже и его окрестностях. *Труды молодых ученых Воронежского государственного университета*. 2012;1-2:17-22].
11. Bokii GV. Medicinal flora of Rostov-on-Don. *Achievements of science and education*. 2017;7:5-6 (In Russ.). [Бокий Г.В. Лекарственная флора г. Ростова-на-Дону. *Достижения науки и образования*. 2017;7:5-6].
12. Ivanchenko AM, Khavanskii AD. Dynamics of anthropogenic load of the Rostov region. *Moscow Economic J*. 2021;7:261-271. (In Russ.). [Иванченко А.М., Хаванский А.Д. Динамика антропогенной нагрузки Ростовской области. *Московский экономический журнал*. 2021;7:261-271]. doi: 10.24411/2413-046X-2021-10430
13. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Edition XIV. Vol. 4. M., 2018. (In Russ.). [Государственная фармакопея Российской Федерации. Издание XIV. Том 4. М., 2018].
14. Ferdinando M, Brunetti C, Fini A, et al. *Flavonoids as Antioxidants in Plants Under Abiotic Stresses*. NY: Springer New York. 2012:159-179.
15. Abdrakhimova IR, Valieva AI. *Secondary metabolites of plants: physiological and biochemical aspects (Part 3. Phenolic compounds)*. Kazan, 2010. (In Russ.). [Абдрахимова И.Р., Валиева А.И. *Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты (Часть 3. Фенольные соединения)*. Казань, 2010].
16. D'yakova NA. Study of the peculiarities of flavonoid accumulation with birdweed grass growing in various urbo- and agrobiocenoses of the Voronezh region. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2020;4:152-157. (In Russ.). [Дьякова Н.А. Изучение особенностей накопления флавоноидов травой горца птичьего, произрастающей в различных урбо- и агробиоценозах Воронежской области. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2020;4:152-157]. doi: 10.37903/vsgma.2020.4.24

■ Автор для переписки

Селиванова Юлия Александровна
Адрес: Воронежский государственный университет,
ул. Студенческая, 3, г. Воронеж, Россия, 394036.

■ Corresponding Author

Yuliya A. Selivanova
Address: Voronezh State University, 3 Studencheskaya st.,
Voronezh, Russia, 394036.

E-mail: u.a.selivanova@yandex.ru

СРАВНИТЕЛЬНАЯ АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ВОДНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ НАДЗЕМНЫХ ОРГАНОВ ЛАБАЗНИКА ВЯЗОЛИСТНОГО (*FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM.) И ЛАБАЗНИКА ШЕСТИЛЕПЕСТНОГО (*FILIPENDULA HEXAPETALA* GILIB.)

Н.С. Соколов, С.Х. Шарипова, К.Н. Сазанова, А.В. Лямин

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

Для цитирования: Соколов Н.С., Шарипова С.Х., Сазанова К.Н., Лямин А.В. Сравнительная антимикробная активность водных извлечений из надземных органов лабазника вязолистного (*Filipendula Ulmaria* (L.) Maxim.) и лабазника шестилепестного (*Filipendula Hexapetala* Gilib.). Аспирантский вестник Поволжья. 2022;22(4):63-68. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.63-68

■ Сведения об авторах

Соколов Н.С. – аспирант кафедры химии Института фармации. ORCID: 0000-0001-8138-4306 E-mail: nikich15@icloud.com

Шарипова С.Х. – канд. хим. наук, доцент кафедры химии Института фармации. ORCID: 0000-0002-6532-4749

E-mail: s.h.sharipova@samsmu.ru

Сазанова К.Н. – канд. фарм. наук, старший преподаватель кафедры управления и экономики фармации.

ORCID: 0000-0002-4287-8386 E-mail: k.n.sazanova@samsmu.ru

Лямин А.В. – канд. мед. наук, доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии.

ORCID: 0000-0002-5905-1895 E-mail: avlyamin@rambler.ru

Рукопись получена: 24.09.2022

Рецензия получена: 28.10.2022

Решение о публикации: 17.11.2022

■ Аннотация

Цель – определить сравнительную антимикробную активность водных извлечений из надземных органов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного.

Материал и методы. Объектами исследования являлись водные извлечения из надземных органов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного. Для приготовления извлечений использовали сырье двух видов лабазника, заготовленное в 2021 году в поселке Алексеевка Самарской области. Антимикробную активность водных извлечений сырья лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного определяли методом двойных серийных разведений в бульоне Мюллера – Хинтона.

Результаты. Проведено скрининговое исследование антибактериальной активности водных извлечений из надземных органов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного. Выявлено, что водные извлечения обладают значительной антибактериальной активностью в отношении грамположительных бактерий штаммов *S. aureus* и *B. cereus*. Изучаемые настои не уступают в антимикробной активности субстанциям, служившим образцами сравнения (0,1% раствор левомицетина спиртовой и свежеприготовленный 0,1% раствор бензилпенициллина). Полученные данные подтверждают перспективность дальнейшего исследования надземной части лабазников вязолистного и шестилепестного в качестве возможного источника биологически активных веществ с антимикробной активностью.

■ **Ключевые слова:** лабазник вязолистный, *Filipendula ulmaria*, лабазник шестилепестный, *Filipendula hexapetala*, трава, антимикробная активность.

■ **Конфликт интересов:** не заявлен.

■ Список сокращений

ТСХ – тонкослойная хроматография; СО – стандартный образец; ДСК – диазобензосульфокислота; МПК – минимальная подавляющая концентрация.

A COMPARATIVE EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACTS FROM AERIAL ORGANS OF MEADOWSWEET (*FILIPENDULA ULMARIA* (L.) MAXIM.) AND DROPWORT (*FILIPENDULA HEXAPETALA* GILIB.)

Nikita S. Sokolov, Safia Kh. Sharipova, Kseniya N. Sazanova, Artem V. Lyamin

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Citation: Sokolov NS, Sharipova SKh, Sazanova KN, Lyamin AV. A comparative evaluation of the antimicrobial activity of aqueous extracts from aerial organs of meadowsweet (*Filipendula Ulmaria* (L.) Maxim.) and dropwort (*Filipendula Hexapetala* Gilib.). Aspirantskiy vestnik Povolzhia. 2022;22(4):63-68. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.63-68

■ Information about authors

Nikita S. Sokolov – a postgraduate student of the Department of Chemistry of the Institute of Pharmacy. ORCID: 0000-0001-8138-4306

E-mail: nikich15@icloud.com

Safia Kh. Sharipova – PhD, Associate professor, Department of Chemistry of the Institute of Pharmacy. ORCID: 0000-0002-6532-4749

E-mail: s.h.sharipova@samsmu.ru

Kseniya N. Sazanova – PhD, assistant of the Department of Management and economics of pharmacy. ORCID: 0000-0002-4287-8386

E-mail: k.n.sazanova@samsmu.ru

Artem V. Lyamin – PhD, Associate professor, Department of General and clinical microbiology, immunology and allergology.

ORCID: 0000-0002-5905-1895 E-mail: avlyamin@rambler.ru

Received: 24.09.2022

Revision Received: 28.10.2022

Accepted: 17.11.2022

■ Abstract

Aim – to evaluate the comparative antimicrobial activity of the aqueous extracts from the aerial organs of the meadowsweet and dropwort.

Material and methods. The objects of the research were the aqueous extracts of the aerial organs of the meadowsweet and dropwort. For the preparation of the extracts we used the raw material harvested in 2021 in the village of Alekseevka, Samara Region. The antimicrobial activity of the aqueous extracts was determined by the method of two-fold dilution in the Mueller–Hinton broth.

Results. According to the results of screening of the antibacterial activity of the aqueous extracts from the aerial organs of the meadowsweet and dropwort, the significant activity against gram-positive bacteria of *S. aureus* and *B. cereus* strains was detected. The studied extracts demonstrated not lower antimicrobial activity than the reference samples of 0.1% alcohol solution of levomycetin (chloramphenicol) and freshly prepared 0.1% benzylpenicillin solution. The results have confirmed the prospects for further study of the aerial organs of the meadowsweet (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) and dropwort (*Filipendula hexapetala* Gilib.) as a possible source of biologically active substances with antimicrobial activity.

■ **Keywords:** meadowsweet, *Filipendula ulmaria*, dropwort, *Filipendula hexapetala*, herb, antimicrobial activity.

■ **Conflict of interest:** nothing to disclose.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Лабазник вязолистный (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.) и лабазник шестилепестный (*Filipendula hexapetala* Gilib.) – растения, относящиеся к семейству Розоцветные (*Rosaceae*), широко распространены в степной и лесостепной зонах европейской части России, особенно в Приволжском федеральном округе [1].

Оба вида исследуемых лабазников имеют богатый химический состав, характеризуются разнообразным составом биологически активных веществ, представленным в основном фенольными соединениями, которые обладают противомикробным действием. Так, в подземной части лабазника вязолистного и шестилепестного содержатся фенольные соединения, представленные салициловым альдегидом, фенологликозидами, дубильными веществами, флавоноидами [2]. Листья лабазника вязолистного содержат фенолкарбоновые кислоты и их производные (кофейную и эллаговую кислоты), дубильные вещества, катехины, флавоноиды, стебли содержат дубильные вещества и следы флавоноидов [2]. В цветках лабазника вязолистного обнаружено эфирное масло, ароматические соединения: метилсалицилат, салициловый альдегид, а также флавоноиды [2]. В состав плодов лабазника вязолистного и шестилепестного входят дубильные вещества и флавоноиды [2].

Ранее рядом ученых был проявлен интерес к антимикробной активности подземных и надземных органов растений рода лабазник [3–7]. В отношении штамма *Bacillus polymixa*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* выявлена антимикробная активность водных экстрактов из соцветий лабазника вязолистного [3]. Учеными из Белоруссии было установлено, что увеличение влажности хранящегося сырья, а именно цветков лабазника вязолистного, приводило к снижению антимикробной активности самого сырья [5]. Учеными из России была изучена антимикробная активность водных и водно-спиртовых (на 40%-ном и 70%-ном спирте этиловом) извлечений из плодов, цветков и трав лабазника вязолистного и шестилепестного [8–10].

Однако в настоящее время препараты на основе сырья лабазника на российском фармацевтическом рынке отсутствуют.

ЦЕЛЬ

Определение сравнительной антимикробной активности водных извлечений из надземных органов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись водные извлечения из надземных органов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного. Для приготовления извлечений использовали сырье лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного, заготовленное в 2021 году в поселке Алексеевка Самарской области.

Для проведения фитохимического анализа надземной части лабазника вязолистного и шестилепестного использовался метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), который проводился в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0003.15 «Тонкослойная хроматография» ГФ РФ XIV изд. [11]. Анализ ТСХ осуществляли с использованием хроматографических пластинок «Сорбфил ПТСХ-АФ-А-УФ», микропипеткой наносили 0,02 мл извлечений (использовались водные извлечения, извлечения на 40%-ном и 70%-ном спирте этиловом и хлороформные извлечения). Рядом микропипеткой наносили раствор свидетеля – стандартный образец (СО) рутина, который соответствовал требованиям ГФ РФ XIV изд. и был предоставлен для исследования центром коллективного пользования Института фармазии Самарского государственного медицинского университета. Определение проводили в системе хлороформ – этанол – вода (25:18:2). Полученные хроматограммы просматривали в УФ-свете при $\lambda=254$ нм и $\lambda=365$ нм, а также обрабатывали раствором диазобензосульфокислоты (ДСК) в 20% растворе натрия карбоната.

Для проведения эксперимента в отношении антимикробной активности получали настои (1:10) листа, стебля, комплекса «стебель и лист», а также комплекса «стебель, лист и цветок» лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного. Настои готовили в соотношении 1:10 по методике, изложенной в Государственной фармакопее РФ XIV издания [11]. Антимикробную активность водных извлечений сырья лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного определяли методом двойных серийных

разведений в бульоне Мюллера – Хинтона в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам» [12].

Таблица 1 / Table 1

Результаты тестирования извлечений из надземной части лабазника вязолистного (*Filipendula ulmaria* (L.))

The test results for the extracts from the aerial part of the meadowsweet (*Filipendula ulmaria* (L.))

Объект / Микроорганизм	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>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	–	–	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	–	–	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	–	–	–	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	–	–	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	–	–	–	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	–	–	–	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	–	–	–	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	–	–	–	–	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма;
– отсутствие роста микроорганизма.

Антибактериальное действие исследовали по отношению к грамположительным (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213) и грамотрицательным (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) бактериям.

Для проведения исследования использовали микрометод, тестирование проводили при величине конечного объема 100 мкл. Рабочие растворы вносили в планшеты для микроразведений по 50 мкл на лунку. При помощи многоканальных пипеток 96-луночный стерильный планшет для иммунологических исследований (с плоским дном) с крышкой заполняли двойными серийными разведениями исследуемых извлечений. Затем разведения инокулировали приготовленной суспензией исследуемого микроорганизма. Инкубацию проводили в обычной атмосфере при температуре 35 °С. При проведении инкубации планшет закрывали крышкой для предотвращения высыхания содержимого лунок.

Инокулюм готовили путем суспензирования колоний, отобранных из ночной культуры, выросшей на 5% кровяном агаре (HiMedia, Индия). Окончательная микробная нагрузка в инокулюме составляла 5×10^5 КОЕ/мл. Для приготовления инокулюма с необходимой концентрацией микроорганизмов использовали 100 мкл суспензии, эквивалентной 0,5 стандарта МакФарланда, которую переносили в пробирку, содержащую 9,9 мл (разведение 1:100) бульона, что позволяло получить суспензию с концентрацией клеток 1×10^6 КОЕ/мл, при добавлении 50 мкл которой к равному объему (50 мкл) исследуемого раствора получали окончательный состав инокулюма. Инокулюм вносился в пробирки с разведениями образца не позднее 15 мин с момента его приготовления. Планшеты с тестируемыми штаммами инкубировали при температуре 35 °С в течение 20–24 ч.

Для определения наличия роста микроорганизма лунки планшетов с посевами просматривали в проходящем свете. Рост культуры в присутствии тестируемого образца наблюдали при сравнении с лункой «отрицательного» контроля. Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) определяли по наименьшей концентрации тестируемого образца, которая подавляет видимый рост микроорганизма [12].

Оценку результатов проводили визуально по наличию / отсутствию роста микроорганизмов в лунках стерильного планшета для иммунологических исследований с соответствующими разведениями исследуемых образцов [13]. Минимальной ингибирующей концентрацией являлась самая низкая концентрация изучаемого образца, которая полностью подавляла рост штамма микроорганизмов.

Таблица 2 / Table 2

Результаты тестирования извлечений из надземной части лабазника шестилепестного (*Filipendula hexapetala* Gilib.)

The test results for the extracts from the aerial part of the dropwort (*Filipendula hexapetala* Gilib.)

Объект / Микроорганизм	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>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	–	–	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	–	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	–	–	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	+	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	–	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>							
Водное извлечение (1:10) из листа и стебля	–	–	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из стебля	–	+	+	+	+	+	+
Водное извлечение (1:10) из листа, стебля и цветка	–	–	–	+	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма;
– отсутствие роста микроорганизма.

Препаратами сравнения служили несколько лекарственных субстанций с доказанной антимикробной активностью: 0,1% раствор левомицетина спиртовой (ОАО «Синтез» (Россия), серия 160421) и свежеприготовленный 0,1% раствор бензилпенициллина (ОАО Биосинтез (Россия), серия 0906321).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фитохимический анализ, проведенный методом ТСХ, определил при детекции в УФ-свете с $\lambda = 366$ нм ярко выраженные розовые флуоресценции пятен хлорофилла с подвижностью $R_f \approx 0,70$ хлороформных извлечений исследуемых образцов. В водно-спиртовых извлечениях тоже, только менее интенсивно, наблюдалось проявление хлорофилла в извлечениях 70%-ным спиртом этиловым. Темно-фиолетовая флуоресценция и сине-фиолетовое свечение в УФ-свете при длине волны 254 нм говорят о содержании в сырье веществ фенольной природы. Установлено наличие в сырье двух видов лабазника соединений фенольной природы, предположительно флавоноидов, которые обнаруживаются по характерному желтому окрашиванию пятен после обработки раствором ДСК в 20% растворе натрия карбоната, R_f которых соответствует R_f СО рутина, взятого в качестве образца сравнения.

По результатам проведенных микробиологических исследований установлено, что все анализируемые водные извлечения из различных органов надземной части лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного оказывают антимикробное действие в отношении тестируемых бактерий.

Водные извлечения из различных органов надземной части лабазника вязолистного проявляют значительную противомикробную активность в отношении грамположительных бактерий. Так, настой из стебля лабазника вязолистного остается активным в отношении против бактерии штамма *S. aureus* при трехкратном разведении. Остальные водные извлечения из надземных органов лабазника вязолистного проявляют активность в отношении против бактерии штамма *S. aureus* до двукратного разведения, после наблюдается рост тестируемого микроорганизма (таблица 1).

Данные показатели активности настоев сопоставимы с действием образца сравнения – свежеприготовленного 0,1% раствора бензилпенициллина. Препарат оказывал противомикробное действие в отношении грамположительной бактерии штамма *S. aureus* до двукратного разведения (таблица 3).

Настой, изготовленный из комплекса органов надземной части (цветок, лист, стебель) лабазника вязолистного, проявлял максимальную антимикробную активность в отношении грамположительной бактерии штамма *B. cereus* (оставался активным при четырехкратном разведении). Остальные водные извлечения из надземных органов лабазника вязолистного проявляли свою активность в отношении бактерии штамма *B. cereus* до трехкратного разведения (таблица 1).

Таблица 3 / Table 3

Результаты тестирования антибактериальной активности образцов сравнения

The results of testing of the reference samples for the antibacterial activity

Объект/ Микроорганизм	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>							
0,1% раствор левомицетина спиртовой	–	–	–	–	+	+	+
0,1% раствор бензилпенициллина	+	+	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>							
0,1% раствор левомицетина спиртовой	–	–	–	–	+	+	+
0,1% раствор бензилпенициллина	–	–	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>							
0,1% раствор левомицетина спиртовой	–	–	–	–	–	–	+
0,1% раствор бензилпенициллина	–	–	–	–	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>							
0,1% раствор левомицетина спиртовой	–	–	–	–	+	+	+
0,1% раствор бензилпенициллина	–	–	–	–	+	+	+

Примечание: + наличие роста микроорганизма;
– отсутствие роста микроорганизма.

Оба препарата сравнения в отношении грамположительной бактерии штамма *B. cereus* оставались активными до четырехкратного разведения.

Данный факт говорит о том, что в настоях содержится комплекс биологически активных соединений, способный проявлять фармакологический эффект, сопоставимый с действием образцов сравнения.

В отношении грамотрицательных бактерий штаммов *P. aeruginosa* и *E. coli* настои, изготовленные из различных органов надземной части лабазника вязолистного, антимикробную активность не проявляли (таблица 1).

Водные извлечения из различных органов надземной части лабазника шестилепестного менее активны в отношении тестируемых бактерий по сравнению с водными извлечениями из различных органов надземной части лабазника вязолистного. Максимальную антимикробную активность проявлял настой из комплекса органов надземной части (цветок, лист, стебель). Этот настой проявлял максимальную антимикробную активность в отношении бактерии штамма *S. aureus* (оставался активным при двукратном разведении) и в отношении бактерии штамма *B. cereus* (оставался ак-

тивным при трехкратном разведении) (таблица 2).

Данные показатели настоев сопоставимы с действием образца сравнения – свежеприготовленного 0,1% раствора бензилпенициллина (таблица 3).

Исследования антибактериальной активности образцов сравнения (0,1% раствор левомицетина спиртовой и свежеприготовленный 0,1% раствор бензилпенициллина) показали, что препараты проявляют свою естественную противомикробную активность в отношении исследуемых штаммов.

Таким образом, проведенные исследования извлечений из надземных органов двух видов лабазника выявили их существенную антимикробную активность. Проведенные фитохимические исследования позволили выявить схожесть хроматографических профилей в сырье двух видов изучаемых лабазников, а также наличие в них веществ фенольной природы, предположительно флавоноидов, представленных рутином.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе хроматографических исследований в траве двух видов лабазника выявлены вещества фенольной (флавоноиды, простые фенолы) природы.

Проведено скрининговое исследование антибактериальной активности водных извлечений из надземных органов лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного в отношении 4 штаммов микроорганизмов. Выявлено, что наибольшей антибактериальной активностью водные извлечения обладают в отношении грамположительных бактерий штаммов *S. aureus* и *B. cereus*. Полученные настои не уступают в антимикробной активности субстанциям, служившим образцами сравнения (0,1% раствор левомицетина спиртовой и свежеприготовленный 0,1% раствор бензилпенициллина). Так, настой лабазника вязолистного, содержащий в своем составе комплекс «цветок – лист – стебель», остается активным при четырехкратном разведении в отношении грамположительной бактерии штамма *B. cereus*. Настой лабазника шестилепестного, содержащий комплекс аналогичного состава, активен до трехкратного разведения. Субстанции (0,1% раствор левомицетина спиртовой и свежеприготовленный 0,1% раствор бензилпенициллина), служившие в качестве образцов сравнения, оставались активны до четырехкратного разведения в отношении грамположительной бактерии штамма *B. cereus*.

Представленные результаты позволяют сделать вывод о том, что антибактериальное действие

изготовленных водных растительных извлечений сходно с действием препаратов с доказанной антимикробной активностью. Наиболее существенным антимикробным действием обладают настои, содержащие в своем составе комплекс из надземных органов («цветок – лист – стебель»).

Полученные данные позволяют сделать вывод о сходной фармакологической активности исследуемых видов и подтверждают перспективность дальнейшего исследования надземной части лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного в качестве возможного источника биологически активных веществ с антимикробным действием.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Mayevskiy PF. *Flora of the middle zone of the European part of Russia*. (In Russ.). [Маевский П.Ф. Флора средней полосы европейской части России. М., 2006].
2. *Plant resources of the USSR: Flowering plants, their chemical composition, use; Families Hydrangeaceae–Haloragaceae*. L., 1987:45–46. (In Russ.). [Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Haloragaceae. Л., 1987:45–46].
3. Bashilov AV. *Screening of bactericidal activity of extracts of meadowsweet, pyatolithus shrub, peppermint and camellia sinensis*. In: *Biologically active substances of plants – study and use*. Minsk, 2013:74–75. (In Russ.). [Башилов А.В. Скрининг бактерицидной активности экстрактов таволги вязолистной, пятилитника кустарникового, мяты перечной и камелии китайской. В кн.: Биологически активные вещества растений – изучение и использование. Минск, 2013:74–75].
4. Boyko NN, Zaytsev AI, Osolodchenko TP. Determination of the antimicrobial activity of alcohol extracts from certain types of vegetable raw materials containing tannins. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015;1:49–54. (In Russ.). [Бойко Н.Н., Зайцев А.И., Осолодченко Т.П. Определение антимикробной активности спиртовых вытяжек из некоторых видов растительного сырья, содержащего дубильные вещества. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015;1:49–54].
5. Moiseev DV. Antimicrobial activity of plant raw materials containing phenolic compounds, depending on the type of packaging and temperature storage conditions. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2014;5(13):130–136. (In Russ.). [Моисеев Д.В. Антимикробная активность растительного сырья, содержащего фенольные соединения, в зависимости от типа упаковки и температурных режимов хранения. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2014;5(13):130–136].
6. Shilova IE, Fedko IV, Dmitruk SE. *Antifungal activity of promising sources for obtaining phytopreparations of Siberian flora*. In: *Biological features of medicinal and aromatic plants and their role in medicine*. M., 2016:633–635 (In Russ.). [Шилова И.Е., Федько И.В., Дмитриук С.Е. Антигрибковая активность перспективных источников получения фитопрепаратов флоры Сибири. В кн.: Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине. М., 2016:633–635].
7. Katanic J, Mihailovic V, Stankovic N, et al. Dropwort (*Filipendula hexapetala* Gilib.): potential role as antioxidant and antimicrobial agent. *EXCLI*. 2015;14:1–20. doi: 10.17179/excli2014-479.
8. Sazanov KN, Sharipova SKh, Ryzhov VM, et al. Antimicrobial activity of extracts from fruits of two species of ipescac (*Filipendula*). *Pharmacy*. 2017;66(2):47–49. (In Russ.). [Сазанова К.Н., Шарипова С.Х., Рыжов В.М., и др. Антимикробная активность извлечений из плодов двух видов лабазника. *Фармация*. 2017;66(2):47–49].
9. Sazanov KN, Sharipova SKh, Ryzhov VM, et al. Antimicrobial activity of extracts from meadowsweet (*Filipendula Ulmaria*) and dropwort (*Filipendula Hexapetala*) flowers. *Pharmacy*. 2018;67(6):46–51. (In Russ.). [Сазанова К.Н., Шарипова С.Х., Рыжов В.М., и др. Антимикробная активность извлечений из цветков лабазника вязолистного и шестилепестного. *Фармация*. 2018;67(6):46–51]. doi: 10.29296/25419218-2018-06-09
10. Sazanov KN, Sharipova SKh, Lyamin AV. Determination of the antimicrobial activity of water and water-alcohol extracts from the herbs of meadowsweet and dropwort. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2018;(5-6):22–26. (In Russ.). [Сазанова К.Н., Шарипова С.Х., Лямин А.В. Определение антимикробной активности водных и водно-спиртовых извлечений из травы лабазника вязолистного и лабазника шестилепестного. *Аспирантский вестник Поволжья*. 2018;(5-6):22–26]. doi: 10.17816/2072-2354.2018.18.3.22-26
11. State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV edition. M., 2018. (In Russ.). [Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.: Медицина, 2018].
12. "Clinical laboratory research and *in vitro* diagnostic test systems. Investigation of the sensitivity of infectious agents and evaluation of the functional characteristics of products for the study of sensitivity to antimicrobial agents". State standard R ISO 20776-1-2010. (In Russ.). [ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам»].
13. Ryabov NA, Ryzhov VM, Kurkin VA. Methods for quantitative determination of total flavonoids in *Quercus robur* L. buds. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(5):356–366. (In Russ.). [Рябов Н.А., Рыжов В.М., Куркин В.А. Методы количественного определения суммы флавоноидов в почках дуба черешчатого *Quercus robur* L. *Фармация и фармакология*. 2021;9(5):356–366]. doi: 10.19163/2307-9266-2021-9-5-356-366

■ Автор для переписки

Сазанова Ксения Николаевна
Адрес: Самарский государственный медицинский университет,
ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

■ Corresponding Author

Kseniya N. Sazanova
Address: Samara State Medical University, 89 Chapaevskaya st.,
Samara, Russia, 443099.

E-mail: k.n.sazanova@samsmu.ru

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА *THYMUS MARSHALLIANUS* В ОТНОШЕНИИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *S. AUREUS* И *C. ALBICANS*

А.С. Шереметьева, О.Г. Шаповал, Н.А. Дурнова

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России (Саратов, Россия)

Для цитирования: Шереметьева А.С., Шаповал О.Г., Дурнова Н.А. Антимикробная активность экстракта *Thymus marshallianus* в отношении клинических штаммов *S. aureus* и *C. albicans*. Аспирантский вестник Поволжья. 2022;22(4):69-72.

doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.69-72

■ Сведения об авторах

Шереметьева А.С. – старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники. ORCID: 0000-0002-0022-8318

E-mail: anna-sheremeteyewa@yandex.ru

Шаповал О.Г. – канд. мед. наук, доцент, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии. ORCID: 0000-0002-8290-7524

E-mail: lavopash283741@yandex.ru

Дурнова Н.А. – д-р биол. наук, доцент, заведующая кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники. ORCID: 0000-0003-4628-9519

E-mail: ndurnova@mail.ru

Рукопись получена: 09.08.2022

Рецензия получена: 16.09.2022

Решение о публикации: 19.09.2022

■ Аннотация

Цель – изучить антимикробную активность экстракта тимьяна Маршалла в отношении клинических штаммов микроорганизмов, выделенных из материала больных.

Материалы и методы. Экстракт из травы тимьяна Маршалла получали по описанной и используемой ранее методике, так как извлечение, полученное данным способом, показало антимикробную активность в отношении стандартных штаммов микроорганизмов. Антимикробную активность извлечений изучали, согласно МУК 4.2.1890-04, в отношении 6 клинических штаммов *Staphylococcus aureus* и 5 клинических штаммов *Candida albicans*, выделенных из материала больных (мазок из носоглотки, кровь, раневое отделяемое) в режимной лаборатории КБ им. С.Р. Миротворцева СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России. Производили секторальный высеv на плотные питательные среды из опытных пробирок с подсчетом колоний, сравнивали с контрольным высевом.

Результаты. Впервые изучена антимикробная активность экстракта тимьяна Маршалла, полученного по запатентованной методике, в отношении клинических штаммов микроорганизмов. Установлен выраженный противостафилококковый эффект экстракта тимьяна Маршалла в отношении клинических штаммов *S. aureus* (МПК от 0,78 мг/мл до 0,39 мг/мл). Антимикотическая активность выявлена только в отношении одного штамма *C. albicans* (МПК 25,0 мг/мл).

Ключевые слова: антимикробная активность, минимальная подавляющая концентрация, клинические штаммы, экстракт, тимьян Маршалла.

Конфликт интересов: не заявлен.

THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *THYMUS MARSHALLIANUS* EXTRACT AGAINST CLINICAL CULTURES *S. AUREUS* AND *C. ALBICANS*

Anna S. Sheremetyeva, Olga G. Shapoval, Natalya A. Durnova

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky (Saratov, Russia)

Citation: Sheremetyeva AS, Shapoval OG, Durnova NA. The antimicrobial activity of *Thymus marshallianus* extract against clinical cultures *S. aureus* and *C. albicans*. *Aspirantskiy vestnik Povolzh'ya*. 2022;22(4):69-72. doi: 10.55531/2072-2354.2022.22.4.69-72

■ Information about authors

Anna S. Sheremetyeva – Senior Lecturer of the Department of General biology, pharmacognosy and botany. ORCID: 0000-0002-0022-8318

E-mail: anna-sheremeteyewa@yandex.ru

Olga G. Shapoval – PhD, Associate professor, Department of Microbiology, virology and immunology. ORCID: 0000-0002-8290-7524

E-mail: lavopash283741@yandex.ru

Natalya A. Durnova – PhD, Associate professor, Head of the Department of General biology, pharmacognosy and botany.

ORCID: 0000-0003-4628-9519 E-mail: ndurnova@mail.ru

Received: 09.08.2022

Revision Received: 16.09.2022

Accepted: 19.09.2022

■ Abstract

Aim – to study the antimicrobial activity of the *Thymus marshallianus* extract against clinical cultures of microorganisms isolated from patients' material.

Material and methods. The extract from the herb *Th. marshallianus* was obtained according to the method previously described and used, since the extraction obtained by this method presented the antimicrobial activity against standard cultures of microorganisms. The antimicrobial activity of extracts was studied in accordance with the Guidelines 4.2.1890-04 for 6 clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and 5 clinical isolates of *Candida albicans* taken from patients' material (nasopharyngeal smear, blood, wound fluid) in the laboratory of the S. R. Mirovtsev of the Saratov State Medical University. The sectoral seeding was performed on dense nutrient media from test tubes with the colonies count, compared with the control seeding.

Results. The antimicrobial activity of *Th. marshallianus* extract, obtained by the patented method, against clinical cultures of microorganisms was studied for the first time. A pronounced anti-staphylococcal effect of *Th. marshallianus* extract was

established against clinical culture of *S. aureus* (the minimum inhibitory concentration ranged from 0.78 mg/ml to 0.39 mg/ml). The antimycotic activity was detected only for one culture of *C. albicans* (minimum inhibitory concentration 25.0 mg/ml).

- **Keywords:** antimicrobial activity, minimum inhibitory concentration, clinical culture, extract, *Thymus marshallianus*.
- **Conflict of interest:** nothing to disclose.

ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость к противомикробным препаратам, согласно данным ВОЗ, представляет собой все более серьезную угрозу для глобального общественного здравоохранения [1], поэтому актуальным вопросом является преодоление полирезистентности микрофлоры к существующим антимикробным препаратам. Одним из перспективных направлений в этой области является изучение антимикробных свойств растительных экстрактов [2–4].

Растения рода *Thymus* L. являются источником сырья, экстракты из которого обладают широким спектром активности: антиоксидантной, спазмолитической, противовоспалительной, отхаркивающей, а также антибактериальной [5–9].

В настоящее время Государственная фармакопея XIV издания включает 2 вида из рода *Thymus* L.: *Th. vulgaris* L. и *Th. serpyllum* L., которые не распространены на территории Саратовской области. Ресурсное значение в области имеет *Th. marschallianus* Willd. Ранее исследован количественный и качественный состав эфирного масла *Th. marschallianus* Willd. [5, 7, 10, 11], а также показана его антимикробная активность в отношении стандартных штаммов *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *Rhizopus*, *Penicillium* и дрожжей [7]. В ряде исследований установлен антимикробный эффект экстрактов тимьяна Маршалла в отношении стандартных штаммов: воднометанольного – в отношении *B. subtilis* [12], спиртового – в отношении *S. aureus*, *S. pseudintermedius*, *B. cereus*, *E. faecalis*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* [13], водного – в отношении *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *B. cereus*, *P. vulgaris*, *C. albicans* [5]. Отмечена роль пектиновых веществ, содержащихся в данном растении и оказывающих антибактериальное действие в отношении ряда патогенных и условно-патогенных бактерий [14].

В литературе отсутствуют данные об антимикробной активности экстрактов тимьяна Маршалла в отношении клинических штаммов микроорганизмов. Следует отметить, что клинические культуры, выделенные из материала пациентов, обладают более выраженной вирулентностью и резистентностью, чем стандартные [3], что делает актуальным изучение

влияния экстракта тимьяна Маршалла на клинические штаммы микроорганизмов.

ЦЕЛЬ

Изучить антимикробную активность экстракта тимьяна Маршалла в отношении клинических штаммов микроорганизмов, выделенных из материала больных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использована трава тимьяна Маршалла, собранная в окрестностях города Саратова в июне–июле 2018 года. Сырье сушили в сухом, хорошо проветриваемом помещении, затем измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 5 мм.

Экстракт получали по описанной и используемой ранее методике, так как извлечение, полученное данным способом, показало антимикробную активность в отношении стандартных штаммов микроорганизмов [14].

Антимикробную активность экстракта изучали ранее используемым [15] методом двукратных серийных разведений [16] с содержанием экстрактивных веществ от 50,0 до 0,39 мг/мл в отношении 6 клинических штаммов *S. aureus* (№4556, №4755, №4917, №4919, №4921, №4926) и 5 клинических штаммов грибов *C. albicans* (№4543, №4548, №47, №4752, №4939). Клинические штаммы были выделены из материала больных (мазок из носоглотки, кровь, раневое отделяемое) в режимной лаборатории Клинической больницы им. С.Р. Миротворцева СГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России. Конечная концентрация микроорганизмов в стандартном инокууме составила 2·10⁶ КОЕ/мл. Для установления минимальной подавляющей концентрации (МПК) экстрактивных веществ отмечали максимальное разведение экстракта с видимой задержкой роста. Для определения эффекта действия производили секторальный высеv на плотные питательные среды из опытных пробирок: на мясо-пептонный агар (для бактерий) и агар Сабуро (для грибов). Затем подсчитывали количество колоний и сравнивали с контрольным высевом.

Таблица 1 / Table 1

МПК экстрактивных веществ в экстракте тимьяна Маршалла, показавшем активность в отношении клинических штаммов *S. aureus* (мг/мл)

The minimum inhibitory concentration of *Thymus marshallianus* extractives, active against clinical strains of *S. aureus* (mg/ml)

Экстракт \ Номер штамма <i>S. aureus</i>	№4556	№4755	№4917	№4919	№4921	№4926
Тимьяна Маршалла	0,78	0,78	0,78	0,78	0,78	0,39

Таблица 2 / Table 2

МПК экстрактивных веществ в экстракте тимьяна Маршалла, показавшем активность в отношении клинических штаммов *C. albicans* (мг/мл)

The minimum inhibitory concentration of *Thymus marshallianus* extractives, active against clinical strains of *C. albicans* (mg/ml)

Экстракт \ Номер штамма <i>C. albicans</i>	№4543	№4548	№47	№4752	№4939
Тимьяна Маршалла	не установлена	не установлена	25	не установлена	не установлена

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программного обеспечения Statistica 10. Различия групп считались достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В отношении клинических штаммов *S. aureus* нами установлен выраженный противостафилококковый эффект экстракта тимьяна Маршалла (МПК варьировала от 0,78 мг/мл до 0,39 мг/мл) (таблица 1).

Антимикотическая активность выявлена в отношении одного штамма *C. albicans* (№47) (МПК 25,0 мг/мл). В отношении других клинических штаммов *C. albicans* противогрибковый эффект не установлен (таблица 2).

Ранее изучалась антимикробная активность экстракта тимьяна Маршалла [17], полученного по запатентованной методике [18], а также очитка большого и очитка пурпурного, полученного по методике со схожими температурными параметрами и очищением хлороформом [19] в отношении стандартных штаммов микроорганизмов. В отношении *P. aeruginosa* активность была разная: у очитка большого установлена МПК экстрактивных веществ в экстракте 3,13 мг/мл, у очитка пурпурного – 6,25 мг/мл, а у тимьяна Маршалла – 12,5 мг/мл. В отношении *S. aureus* наиболее выраженную антибактериальную активность проявил тимьян Маршалла (МПК 0,78 мг/мл), а у очитка большого и очитка пурпурного МПК составила 6,25 мг/мл. В отношении *E. coli* МПК экстрактивных веществ в извлечениях из травы тимьяна Маршалла составила 12,5 мг/мл, очитка пурпурного – 25,0 мг/мл, а очитка большого – 50 мг/мл. Антимикотической активностью полученные экстракты не обладали [17, 19] (таблица 3).

Наиболее выраженная антибактериальная активность в отношении стандартных штаммов у изученных ранее экстрактов отмечена в отношении

грамположительных микроорганизмов (*S. aureus*), при этом наиболее активным был экстракт тимьяна Маршалла (МПК 0,78 мг/мл) [17]. Выявленная в нашем эксперименте противостафилококковая активность экстракта тимьяна Маршалла в отношении клинических штаммов (МПК 0,78 мг/мл) согласуется по степени выраженности с ранее полученными результатами в отношении стандартных культур.

Антимикотическая активность нами выявлена только в отношении одного клинического штамма *C. albicans* (№47) (МПК 25,0 мг/мл), в отношении других штаммов (№4543, №4548, №4752, №4939) противогрибковый эффект не установлен (таблица 2). Результаты нашего эксперимента также согласуются с данными ранее проведенного исследования в отношении стандартных штаммов *C. albicans* (таблица 3), в котором противогрибковая активность не выявлена у *C. albicans* [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые изучена антимикробная активность экстракта тимьяна Маршалла, полученного по запатентованной методике в отношении клинических штаммов микроорганизмов.

Установлена выраженная противостафилококковая активность экстракта тимьяна Маршалла в отношении 6 клинических штаммов (МПК 0,39–0,78 мг/мл), что согласуется с результатами проведенного ранее эксперимента в отношении стандартных штаммов микроорганизмов.

Антимикотическая активность экстракта в диапазоне концентраций экстрактивных веществ 0,39–50,0 мг/мл выявлена только в отношении одного клинического штамма *C. albicans* (МПК 25,0 мг/мл). В отношении остальных четырех экспериментальных клинических штаммов *C. albicans* противогрибковая активность не установлена, что также согласуется с результатами проведенного ранее

Таблица 3 / Table 3

МПК экстрактивных веществ в экстрактах, показавших активность в отношении стандартных штаммов (мг/мл)

The minimum inhibitory concentration of *Thymus marshallianus* extractives presented the activity against standard strains (mg/ml)

Экстракт \ Культура микроорганизмов	<i>S. aureus</i> ATCC 209P	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27835	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>C. albicans</i> ATCC 13108
Очитка большого	6,25	3,13	50	не установлена
Очитка пурпурного	6,25	6,25	25	не установлена
Тимьяна Маршалла	0,78	12,5	12,5	не установлена

эксперимента в отношении стандартных штаммов микроорганизмов.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kulisic T, Dragovic-Uzelac V, Milos M. Antioxidant activity of aqueous tea infusions prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme. *Food Technol Biotechnol*. 2006;44(4):485-492.
- Sheremetyeva AS, Durnova NA, Berezutsky MA. Essential oils level in herbs of different species of thyme (*Thymus* L.). *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*. 2017;15(2):15-19. (In Russ.). [Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Бerezутский М.А. Содержание эфирных масел в траве разных видов рода тимьян (*Thymus* L.). *Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета*. 2017;15(2):15-19]. doi: 10.18500/1682-1637-2017-15-2-15-19
- 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. doi: 10.3390/molecules24173101
- Miura K, Kikuzaki H, Nakatani N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *J Agric Food Chem*. 2002;50(7):1845-1851. doi: 10.1021/jf011314o
- Durnova NA, Romanteeva YuV, Kovtun AN. The chemical composition of the essential oil of *Thymus Marshallianus* Willd. and *Thymus Pallasianus* H. Br., growing in the Saratov region. *Chemistry of plant raw material*. 2014;(2):115-119. (In Russ.). [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):115-119].
- Guidelines MUK 4.2.1890-04. "Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs". M., 2004. (In Russ.). [Методические указания МУК 4.2.1890-04. «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». М., 2004].
- WHO. Antimicrobial resistance. Antimicrob Resist Glob Rep surveillance. Geneva, 2014.
- Orłowska M, Kowalska T, Sajewicz M, et al. A Comparison of Antibacterial Activity of Selected Thyme (*Thymus*) Species by Means of the Dot Blot Test with Direct Bioautographic Detection. *Journal of AOAC International*. 2015;98(4):871-875. doi: 10.5740/jaoacint.SGE5-Orłowska
- Pushkareva VI. Bacterial Pathogens: Migration from Environmental Reservoirs to Human Host. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2019;139(5):457-465. (In Russ.). [Пушкарева В.И. Бактериальные патогены: миграция от их естественных резервуаров человеку. *Успехи современной биологии*. 2019;139(5):457-465]. doi: 10.1134/S0042132419040070
- Sheremetyeva AS, Durnova NA, Raykova SV. Research of antimicrobial activity water-alcohol extract *Thymus marchallianus*. In: Modern trends in the development of health saving technologies. M., 2019:509-514. (In Russ.). [Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Райкова С.В. Исследование
- antimicrobial активности водно-спиртового экстракта тимьяна Маршалла. В кн.: Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения. М., 2019:509-514].
- Manconi M, Petretto G, D'hallewin G, et al. Thymus essential oil extraction, characterization and incorporation in phospholipid vesicles for the antioxidant/antibacterial treatment of oral cavity diseases. *Colloids and Surfaces B. Biointerfaces*. 2018;171:115-122. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.07.021
- Pushkareva VI, Ermolaeva SA. Experimental evidences on a crop plant role in epidemiology of sapronotic (soil-borne) bacterial infection. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2018;5:113-121. (In Russ.). [Пушкарева В.И., Ермолаева С.А. Экспериментальное обоснование роли растений в эпидемиологии сапронозных инфекций. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018;5:113-121].
- Raikova SV, Durnova NA, Prikhod'ko VV, et al. Antimicrobial activity of herbal extracts from *Sedum maximum* (L.) Hoffm., *Sedum telephium* L. received by different methods. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2017;13(2):213-216. (In Russ.). [Райкова С.В., Дурнова Н.А., Приходько В.В., и др. Антимикробная активность экстрактов очитков (*Sedum maximum* (L.) Hoffm., *Sedum telephium* L.), полученных разными методами. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2017;13(2):213-216].
- Method for obtaining a dry extract from plant materials with biological activity: patent 2482863. Russia. No. 2012105384/15; Dec. 02/15/12; Publ. 05/27/13, Bull. No. 15. 1 p. (In Russ.). [Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью: патент 2482863 Российской Федерации. №2012105384/15; заявл. 15.02.12; опубл. 27.05.13, Бюл. № 15. 1 с.].
- Starchak YuA. Pharmacognostic study of plants of the genus thyme (*Thymus* L.) as a promising source of phytopreparations [dissertation]. Samara, 2016. (In Russ.). [Старчак Ю.А. Фармакогностическое изучение растений рода тимьян (*Thymus* L.) как перспективного источника получения фитопрепаратов. Дис. ... на докт. фарм. наук. Самара, 2016].
- Frolova AV. An integrated approach to overcome antibiotic resistance. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2013;1(2):231-233. (In Russ.). [Фролова А.В. Комплексный подход к преодолению антибиотикорезистентности. *Вестник проблем биологии и медицины*. 2013;1(2):231-233].
- Jia HL, Ji QL, Xing SL, et al. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial activities of the essential oils of *Thymus marschallianus* Will. and *Thymus proximus* Serg. *Journal of Food Science*. 2010;75(1):59-65. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01413.x
- Broucke CO, Lemli JA. Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris*. *Pharmacy World Science*. 1983;5(1):9-14. doi: 10.1007/BF01959645
- Bubenchikova VN, Starchak YuA, Lapina ES. Quantitative determination of functional groups of pectin substances of the herb *Thymus Marshallianus* Willd. *Advances in Current Natural Sciences*. 2015;1:1139-1141. (In Russ.). [Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А., Лапина Е.С. Тимьян Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) – источник пектиновых веществ. *Успехи современного естествознания*. 2015;1:1139-1141].

■ Автор для переписки

Шереметьева Анна Сергеевна
Адрес: Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского, ул. Большая Казачья, 112, г. Саратов, Россия, 410012.

■ Corresponding Author

Anna S. Sheremetyeva
Address: Saratov State Medical University, 112 B. Kazachya st., Saratov, Russia, 410012.

E-mail: anna-sheremetyeva@yandex.ru