

УДК: 633.81-615.322

## СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В СЫРЬЕ ОФИЦИНАЛЬНЫХ ВИДОВ ЗВЕРОБОЯ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Проскуряков Алексей Анатольевич<sup>1</sup>, Гребенников Максим Андреевич<sup>1</sup>, Киселева Ольга Анатольевна<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра фармации

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

<sup>2</sup>ФГБУН Ботанический сад УрО РАН

Екатеринбург, Россия

### Аннотация

**Введение.** Несмотря на то, что на территории Свердловской области широко представлены растения, включенные в Государственную Фармакопею, открытым остается вопрос соответствия содержания биологически активных веществ в местном сырье по отношению к общевиновым показателям, что особенно важно при рассмотрении перспективных с фармакологической точки зрения и широко представленных в номенклатуре фитопрепаратов лекарственных растений, таких как зверобой. Гарантия качества местной сырьевой базы будет способствовать повышению доступности лекарственных растительных препаратов и усилению суверенитета региона в данной сфере. **Цель исследования** – определение содержания веществ фенольной природы в траве зверобоя продырявленного и зверобоя пятнистого, для установления пригодности к заготовке местного лекарственного растительного сырья. **Материал и методы.** Нами использовано предварительно заготовленное сырье зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.), зверобоя пятнистого (*Hypericum maculatum* Crantz), проведено количественное спектрофотометрическое исследование с использованием реактива Фолина-Чокальтеу. **Результаты.** В ходе работы установлено содержание суммы фенольных соединений, содержащихся в траве зверобоя продырявленного ( $45,871 \pm 0,757$  мг/г) и зверобоя пятнистого ( $54,129 \pm 0,932 - 70,083 \pm 0,303$  мг/г), произрастающих на территории Свердловской области. **Выводы.** По результатам выполненного исследования, на основании определенного содержания суммы веществ фенольной природы, установлено, что взятые для анализа официальные виды зверобоя, произрастающие на территории Свердловской области, целесообразны для заготовки из местных источников в качестве лекарственного растительного сырья.

**Ключевые слова:** *Hypericum perforatum*, *Hypericum maculatum*, реактив Фолина-Чокальтеу, фенольные соединения.

## CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE RAW MATERIALS OF OFFICIAL SPECIES OF ST JOHN'S WORT GROWING IN THE SVERDLOVSK REGION

Proskuryakov Alexey Anatolievich<sup>1</sup>, Grebennikov Maxim Andreevich<sup>1</sup>, Kiseleva Olga A Anatolievna<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacy

Ural State Medical University

<sup>2</sup>Institute Botanic Garden, Ural Branch, Russian Academy of Sciences

Yekaterinburg, Russia

### Abstract

**Introduction.** Despite the fact that plants included in the State Pharmacopoeia are widely represented in the Sverdlovsk region, the issue of compliance of the content of biologically active substances in local raw materials in relation to the species-specific indicators remains open, which is especially important when considering pharmacologically promising and widely represented in the nomenclature of herbal preparations, such as St. John's wort. Guaranteeing the quality of the local raw material base will help to increase the availability of herbal medicines and strengthen the region's sovereignty in this area. **The aim of the study** is to determine the content of substances of phenolic nature in St John's wort and St John's wort to determine the suitability of local medicinal plant raw materials for harvesting. **Material and methods.** We used pre-prepared raw materials of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.), St. John's wort (*Hypericum maculatum* Crantz), quantitative spectrophotometric study was carried out using Folin-Ciocalteu reagent. **Results.** During the study, we determined the content of the sum of phenolic compounds contained in the herb of St John's wort ( $45.871 \pm 0.757$  mg/g) and St John's wort ( $54.129 \pm 0.932 - 70.083 \pm 0.303$  mg/g) growing in the Sverdlovsk region. **Conclusion.** According to the results of the performed research, based on the determined content of the sum of substances of phenolic nature, it was established that the official species of St. John's wort grown on the territory of the Sverdlovsk region, taken for analysis, are expedient for harvesting from local sources as medicinal plant raw materials.

**Keywords:** *Hypericum perforatum*, *Hypericum maculatum*, Folin-Ciocalteu reagent, phenolic compounds.

## ВВЕДЕНИЕ

В фармацевтической практике широкое распространение имеют лекарственные растительные препараты (ЛРП), что вызвано более мягким эффектом, который они оказывают, а также комплексностью действия, заключающейся в плеiotропности данных препаратов. Среди подобных фитопрепаратов особое место занимают средства, производимые из лекарственного растительного сырья (ЛРС) зверобоя продырявленного и зверобоя пятнистого. На современном фармацевтическом рынке сохраняется представительная номенклатура препаратов, содержащих в своем составе зверобой, включая как галеновые формы – настойки и экстракты, так и таблетированные, в виде порошков для местного применения и сборов. Для них характерен широкий спектр применения, включая: антидепрессивное, кровоостанавливающее, противовоспалительное, антимикробное, противовирусное и антиоксидантное [1].

Столь высокая перспективность данных видов ЛРС вызывает интерес к ресурсообеспеченности региона, которая могла бы способствовать снижению себестоимости фитопрепаратов и более активному их внедрению в медицинскую практику, оказывая позитивное влияние на фармакогностическую отрасль региона.

**Цель исследования** – определение содержания веществ фенольной природы в траве зверобоя продырявленного и зверобоя пятнистого, заготовленных по итогам проведенной ресурсоведческой экспедиции на территории Свердловской области для установления пригодности к заготовке местного ЛРС.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Осуществлена экспедиция по трем точкам предполагаемых ареалов произрастания (выбор точек выполнялся исходя из геоданных одной из крупнейших международных информационных площадок о биоразнообразии GBIF (iNaturalist Research-grade Observations)) зверобоя продырявленного (*Hypericum perforatum* L.) - окрестности г. Михайловск 56.46293° N, 59.10416° E и зверобоя пятнистого (*Hypericum maculatum* Crantz) - гора Аптечная, г. Нижние Серги 56.67078° N, 59.31374° E, окрестности деревни Хомутовка 56,86288° N, 59,81568° E на территории Свердловской области.

Для проведения анализа было взято по 1,0 г предварительного измельченного до размера частиц в 1-2 мм сырья травы зверобоя продырявленного и зверобоя пятнистого (*Hyperici herba*). Для получения фенольного экстракта к 1,0 г высушенного сырья, перенесенного в химический стакан объемом 250 мл, добавляли спирт этиловый 70%, приготовленный согласно ГФ XIV разведением 96% этанола, в объеме 25 мл. Извлечения укупоривали и экстрагировали 24 часа, после чего отфильтровали через ватный фильтр. Для осуществления реакции брали 0,2 М раствор Фолина-Чокальтеу (полученный разведением 2 Н реактива Фолина-Чокальтеу (Синтакон, Россия)), 7,5% раствор карбоната натрия, а также серию растворов галловой кислоты (ГК) с концентрациями 250, 200, 150, 100, 50 мкг/мл для построения калибровочного графика, приготовленных из стандартного образца ГК (серия 130123, чистота  $\geq 98,5\%$ , [149-91-7]), путем взятия точной навески на аналитических весах МИДЛ МЛ 0,2-1 В1Ж "Ньютон ГЛС" (Россия) в размере 0,0075 г, перемещенной в мерный цилиндр объема 25 мл, с добавлением 15 мл 70% спирта и дальнейших разведений методом аликвотирования.

Реакция выполнялась в пробирках Эппендорфа объема 2 мл. Экстракты анализировали в трех повторностях, как и растворы ГК. К 0,2 мл спиртового экстракта/раствора ГК добавляли 1 мл раствора Фолина-Чокальтеу и тщательно перемешивали (отмечалось зеленое окрашивание). Через 5 минут приливали 0,8 мл раствора карбоната натрия, перемешивали и инкубировали в темноте в течение 35 минут (смена зеленого окрашивания на синее). В случае выпадения осадка реакционную смесь центрифугировали на центрифуге Eppendorf Centrifuge 5424 R (Германия) в течение 10 минут при 3000 об/мин. Далее измеряли оптическую плотность при 760 нм на спектрофотометре ПЭ-5400УФ (Россия).

Содержание суммы фенольных соединений (мкг/мл) определялось по регрессионному уравнению  $y = 0.0089x + 0,6988$  ( $R^2 = 0.957$ ), которое было получено из калибровочного графика, построенного для ГК.

Сумму фенольных соединений в пересчете на галловую кислоту вычисляли по формуле:

$$X = \frac{C * V_1 * V_3}{V_2 * m}$$

где  $X$  – сумма фенольных соединений, мкг/г;  $C$  – концентрация фенолов, определенная по калибровочному графику, мкг/мл;  $V_1$  – общий объем спиртового экстракта, мл (25 мл);  $V_2$  – объем супернатанта, вносимого в пробирку, мл (0,1 мл);  $V_3$  – конечный объем пробы в пробирке, мл (5,0 мл);  $m$  – навеска растительного материала, г (1,0 г).

Концентрацию фенолов определяли по формуле:

$$C = \frac{y - a}{b}$$

где  $C$  – концентрация фенолов, определенная по калибровочному графику, мкг/мл;  $y$  – величина отклика;  $a$  – свободный член;  $b$  – угловой коэффициент линейной зависимости.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных вели согласно ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических химических испытаний», для обработки данных использовали программу Microsoft Excel 2402. Сходимость и воспроизводимость полученных данных оценивали на основании расчётов стандартного отклонения и фактора Пирсона с доверительной вероятностью 0,95.

Прецизионность использованной нами методики оценивалась через оценку повторяемости (сходимости) результатов анализа согласно требованиям ОФС.1.1.0012 Валидация аналитических методик [2].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам спектрофотометрического анализа спиртовых экстрактов получены следующие данные для анализируемых образцов сырья (Таблица 1).

Таблица 1

Оптическая плотность анализируемых экстрактов

| Анализируемое сырье | H. perforatum | H. maculatum (1) | H. maculatum (2) |
|---------------------|---------------|------------------|------------------|
| Показатель          |               |                  |                  |
| $y_1$               | 1,027         | 1,076            | 1,199            |
| $y_2$               | 1,030         | 1,091            | 1,195            |
| $y_3$               | 1,017         | 1,083            | 1,196            |

Примечание:  $y_{1-3}$  – величина отклика, \*различия показателей для H. perforatum и H. maculatum (1) обнаружены статистически значимые достоверные различия ( $p < 0,05$ ), а для H. maculatum (2) различия обнаружены на высоком уровне статистической значимости ( $p < 0,01$ )

Полученные первичные данные обработали и установили, что средняя величина оптической плотности экстракта зверобоя продырявленного составляет  $1,025 \pm 0,017$ , а для зверобоя пятнистого  $1,083 \pm 0,019$ – $1,197 \pm 0,005$ . Статистическая обработка данных показала, что при размахе выборки из трех значений для зверобоя продырявленного равном 0,013, значение фактора Пирсона, составило 0,023, а для зверобоя пятнистого с размахом выборки во второй точке соответствующем 0,015, при факторе Пирсона в 0,025 и размахом в 0,004 для третьей точки с фактором Пирсона исчисляемым, как 0,007, можно сделать вывод, что разность удовлетворяет неравенству во всех трех случаях и полученные экспериментальные сведения можно считать воспроизводимыми.

Далее по формуле, нами рассчитана сумма фенольных соединений, содержащихся в проанализированных экстрактах, и получены результаты для зверобоя продырявленного в  $45,871 \pm 0,757$  мг/г ( $4,59 \pm 0,08$  % в пересчете на абсолютно сухое сырье), для зверобоя пятнистого соответственно  $54,129 \pm 0,932$  мг/г ( $5,41 \pm 0,09$  % в пересчете на абсолютно сухое сырье) и  $70,083 \pm 0,303$  мг/г ( $7,01 \pm 0,03$  % в пересчете на абсолютно сухое сырье).

## ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам исследования стоит отметить, ряд трудностей возникших в ходе его проведения, что связано с крайне малыми концентрациями стандартных растворов ГК, взятых для построения калибровочного графика, по которому производились вычисления концентраций суммы фенольных соединений. Несмотря на имеющую место быть погрешность нами была подтверждена удовлетворительная линейность графика путем расчета коэффициента регрессии, составившего 0,98, что превышает значение в 0,9, установленное ОФС «Валидация аналитических методик» для следовых количеств вещества.

С другой стороны, также имели место ограничения, связанные с использованной методикой спектрофотометрического анализа с реагентом Фолина-Чокальтеу, выражающиеся в возможности перекрестного реагирования с енолами, такими как аскорбиновая кислота, которая может содержаться в траве зверобоя. Однако более высокая специфичность методики по сравнению с общепринятой спектрофотометрической методикой по комплексообразованию с хлоридом алюминия, имеющей тенденцию к занижению результатов, выражающаяся в отсутствии значимых отклонений при наличии соэкстрактивных веществ по типу восстанавливающих сахаров, азотистых гетероциклов и ароматических аминов [3].

Полученные результаты суммы полифенольных соединений в траве зверобоя хорошо укладываются в верхние границы интервала значений и даже превосходят его почти в 1,5 раза для сырья отобранного в третьей точке, имеющего вид 18,3 – 53,4 мг/г и определенного для представленного на современном фармацевтическом рынке ЛРС зверобоя различных производителей [4].

Указанное соотношение полученных нами экспериментальных данных со сведениями научной литературы говорит о потенциальной высокой перспективности использования исследованных нами официальных видов для заготовок, ввиду большего по сравнению со среднерыночным показателем суммы фенольных соединений в сырье, ассоциированным с потенциальной величиной ожидаемого фармакологического эффекта. Установленное преимущество в значительной степени дополняется значительностью разведанных запасов зверобоя на территории Свердловской области [5].

## ВЫВОДЫ

1. По результатам работы подтверждена высокая перспективность и целесообразность заготовок местного сырья официальных растений, произрастающих на территории Свердловской области.

2. Установлено со значительными показателями достоверности и воспроизводимости высокое содержание суммы фенольных соединений в отобранном для проведения анализа сырья зверобоя продырявленного и зверобоя пятнистого.

3. По итогам произведенного исследования можно говорить о потенциально высоком уровне фармакологической активности ЛРС, заготавливаемого из местных источников в пределах Свердловской области, фармакопейных видов зверобоя.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Постраш, И. Ю. Травы зверобоя продырявленного: химический состав, свойства, применение / И. Ю. Постраш // Вестник АПК Верхневолжья. – 2021. – № 1(53). – С. 57-63.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации, XV издание / 2023. – URL: <https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/10/gosudarstvennaya-farmakopeya-rossiyskoy-federatsii-xv-izdaniya> (дата обращения: 20.03.2024). – Текст электронный.
3. Оценка суммы полифенольных соединений в комплексных фитопрепаратах ангионорм и простанорм методом Фолина — Чокальтеу / П. А. Стручков, В. Л. Белобородов, И. Р. Ильясов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2016. – № 50. – С. 56–60.
4. Милевская, В.В. Определение биологически активных веществ в лекарственном растительном сырье антидепрессантного и противоспазмического действия : специальность 02.00.02 «Аналитическая химия» : диссертация кандидата хим. наук / Милевская Виктория Васильевна; Кубанский государственный университет. – Краснодар, 2017. – 160 с.
5. Комплексная оценка состояния некоторых дикорастущих лекарственных растений юго-западных районов Свердловской области / А. Ю. Турышев, А. Е. Рябинин, А. Б. Яковлев, Г. И. Олешко // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 6-6. – С. 1477-1481.

## Сведения об авторах

А.А. Проскуряков\* – студент фармацевтического факультета

М.А. Гребенников – студент фармацевтического факультета

О.А. Киселева – кандидат биологических наук, доцент

### Information about the authors

A.A. Proskuryakov\* – student of Faculty of Pharmacy

M.A. Grebennikov – student of Faculty of Pharmacy

O.A. Kiseleva – Candidate of Science (Biology), Associate Professor

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

prosk0202@mail.ru

УДК: 615.036.2

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ ДИСЛИПИДЕМИЙ ИНГИБИТОРАМИ 3-ГИДРОКСИ-3-МЕТИЛГЛЮТАРИЛ-КОФЕРМЕНТ А РЕДУКТАЗЫ У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

Рухмалева Виктория Алексеевна<sup>1</sup>, Шамбатов Мураз Акбар Оглы<sup>1</sup>, Вихарева Анна Андреевна<sup>1,3</sup>, Гренадерова Мария Александровна<sup>1</sup>, Пашкина Инна Александровна<sup>2</sup>, Чухарева Ксения Сергеевна<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кафедра фармакологии и клинической фармакологии

<sup>2</sup>Кафедра госпитальной терапии

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

<sup>3</sup>Поликлиника ФГБУН ИВТЭ УрО РАН

Екатеринбург, Россия

### Аннотация

**Введение.** С выходом новых клинических рекомендаций назначение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы регламентировано в комбинации с эзетембем со старта терапии. **Цель исследования** – оценить эффективность применения ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы в качестве монотерапии первой линии у пациенток с дислипидемией в постменопаузе. **Материал и методы.** Проведен ретроспективный анализ результатов лечения 95 женщин, первично обратившихся на амбулаторный прием к врачу терапевту. Пациенткам был стратифицирован риск фатальных и не фатальных сердечно-сосудистых событий согласно шкале SCORE2-OP, после чего они были разделены на соответствующие группы риска. Всем исследуемым женщинам было рекомендовано применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы. Контроль следования рекомендациям и изменений липидного спектра был произведен спустя 3 года после назначения препарата. **Результаты.** Из 95 исследуемых пациенток у 58 (61,1%) был установлен высокий риск ССО, у 37 (38,9%) – очень высокий. Целевых значений согласно своей группе риска достигли 30 пациенток (31,6%), 65 (68,4%) – не достигли. При этом, из них 31 человек – пациенты очень высокого риска. 41,5% пациентов принимали препараты, но не достигли должного снижения ХС ЛПНП. Пациенты очень высокого риска, которые следовали рекомендациям по применению ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы, но не достигли целевых значений липидов – 29,2%. **Выводы.** Среди пациенток с дислипидемией в постменопаузе следовали рекомендациям по применению гиполипидемической терапии 50,5%. На пониженную приверженность к терапии наибольшее влияние оказала негативная оценка в СМИ и литературе – 42,5% и симптомы миалгии – 21,3%. Целевых значений липидов согласно своей группе риска достигли лишь 31,6% пациенток. Из недостигших целевых значений (68,4%) – 41,5% принимали препараты согласно рекомендациям. Из не достигших целевого уровня липидов и принимавших терапию – 29,2% находятся в категории очень высокого риска.

**Ключевые слова:** ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы, дислипидемия, постменопаузальный период.

## EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF THERAPY OF DYSLIPIDEMIA WITH 3-HYDROXY-3-METHYLGLUTARYL-COENZYME A REDUCTASE INHIBITORS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN

Rukhmaleva Victoria Alekseevna<sup>1</sup>, Shambatov Muraz Akbar ogly<sup>1</sup>, Vikhareva Anna Amdreevna<sup>1,3</sup>, Grenaderova Maria Aleksandrovna<sup>1</sup>, Pashkina Inna Aleksandrovna<sup>2</sup>, Chuhareva Ksenia Sergeevna<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology

<sup>2</sup>Department of Hospital Therapy

Ural State Medical University

<sup>3</sup>Polyclinic of the Federal State Budgetary Institution Institute of High Temperature Electrochemistry of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

Yekaterinburg, Russia

### Abstract