

Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 9, Выпуск 6, 2021

Свидетельство регистрации СМИ:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместители главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Черников Максим Валентинович доктор медицинских наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино профессор, MD, PhD, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Дискуссии, рецензии, юбилеи, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Корректор: Мищенко Екатерина Сергеевна, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

Адрес издательства: 357532, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз. Цена свободная.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), Scopus, Web of Science (ESCI), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, КиберЛенинка, Соционет, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Universit  de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Амирит»,

410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 88.

  ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2021

  Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, 2021

  Авторы, 2021

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov Academian RAS, PhD (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov PhD (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Maxim V. Chernikov PhD (Medicine), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin PhD (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarova PhD (Pharmacy), Professor of the RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan PhD (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Roman A. Khanfer`yan PhD (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet MD, PhD Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino Professor, MD, PhD, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich PhD (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Somasundaram Subramanian MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia N., PhD (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Proofreader: Mischenko Ekaterina S., Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov G., PhD (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina A., Pyatigorsk, Russia

Founder: Volgograd State Medical University. 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

Editors office address: 11, Kalinin ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Union catalogue. Russian Press / Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation. Price free

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Scopus, Web of Science (ESCI), Russian citation database, eLibrary, ARISTI (All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC "Amirit" in accord with provided materials, 410004, Saratov, 88, Chernishevsky Str.

© Volgograd State Medical University, 2021

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2021

©Authors, 2021

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS**ОБЗОРЫ, ЛЕКЦИИ / REVIEWS, LECTURES**

<i>Е.Г. Привалова</i>	<i>E.G. Privalova</i>
НЕКОТОРЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ ПОДСЕМЕЙСТВА <i>ASTEROIDAE (ASTERACEAE)</i> И РОДА <i>GERANIUM</i> (<i>GERANIACEAE</i>) ПРИБАЙКАЛЬЯ (ОБЗОР).....	A FEW REPRESENTATIVES OF <i>ASTEROIDAE</i> (<i>ASTERACEAE</i>) SUBFAMILY AND <i>GERANIUM</i> (<i>GERANIACEAE</i>) GENUS IN THE BAIKAL REGION (REVIEW)
426	426

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ / RESEARCH ARTICLE**Фармацевтическая технология и биотехнология / Pharmaceutical Technology and Biotechnology**

<i>Я.А. Костыро, К.В. Алексеев</i>	<i>Ya.A. Kostyro, K.V. Alekseev</i>
РАЗРАБОТКА ПЕРОРАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ СУЛЬФАТИРОВАННОГО АРАБИНОГАЛАКТАНА В ВИДЕ КАЛИЕВОЙ СОЛИ....	DEVELOPMENT OF PERORAL HYPOLIPIDEMIC FORMULATION BASED ON SULFATED ARABINOGALACTAN IN THE FORM OF POTASSIUM SALT
441	441

Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and Clinical Pharmacology

<i>Л.А. Балькова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, Ю.А. Костина, М.С. Искандярова, Е.В. Негоднова, В.В. Еремеев, Л.Ф. Сабиров, Е.В. Семелева</i>	<i>L.A. Balykova, O.A. Radaeva, K.Ya. Zaslavskaya, Yu.A. Kostina, M.S. Iskandyarova, E.V. Negodnova, V.V. Yermeev, L.F. Sabirov, E.V. Semeleva</i>
ИЗУЧЕНИЕ КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ФАВИПИРАВИРА У КОМОРИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 НА АМБУЛАТОРНОМ ЭТАПЕ ЛЕЧЕНИЯ	STUDY OF CLINICAL AND PATHOGENETIC EFFECTS OF ANTI-VIRAL DRUG BASED ON FAVIPYRIVIR IN COMORBID PATIENTS WITH COVID-19 AT THE OUTPATIENT STAGE OF TREATMENT
454	454
<i>Ю.Ю. Петухова, Е.В. Елисеева, А.Г. Петухова</i>	<i>Yu.Yu. Petukhova, E.V. Eliseeva, A.G. Petukhova</i>
КЛИНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРОГРАММНОГО СКРИНИНГА КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА УРОВНЕ СУБЪЕКТА.....	CLINICAL AND ECONOMIC JUSTIFICATION OF SOFTWARE SCREENING PERFORMANCE OF COLORECTAL CANCER AT THE REGION LEVEL.....
465	465
<i>А.С. Шереметьева, А.М. Напшева, Н.А. Дурнова</i>	<i>A.S. Sheremetyeva, A.M. Napsheva, N.A. Durnova</i>
ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ <i>IN VIVO</i> ВОДНОГО И СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТОВ <i>THYMUS MARSCHALLIANUS</i> WILLD.....	ANTITUMOR ACTIVITY <i>IN VIVO</i> OF AQUEOUS AND ALCOHOLIC EXTRACTS OF <i>THYMUS</i> <i>MARSCHALLIANUS</i> WILLD
476	476
<i>А.Л. Ясенявская, А.А. Цибизова, Л.А. Андреева, Н.Ф. Мясоедов, О.А. Башкина, М.А. Самотруева</i>	<i>A.L. Yasenyavskaya, A.A. Tsibizova, L.A. Andreeva, N.F. Myasoedov, O.A. Bashkina, M.A. Samotrueva</i>
ВЛИЯНИЕ ГЛИПРОЛИНОВ НА УРОВЕНЬ АПОПТОТИЧЕСКИХ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В УСЛОВИЯХ «СОЦИАЛЬНОГО» СТРЕССА	EFFECT OF GLYPROLINES ON THE LEVEL OF APOPTOTIC AND NEUROTROPHIC FACTORS UNDER CONDITIONS OF "SOCIAL" STRESS
485	485

Организация и экономика фармацевтического дела / Organization and Economy of Pharmacy

<i>Е.В. Казакова, В.П. Трухин, И.А. Наркевич, И.И. Басакина</i>	<i>E.V. Kazakova, V.P. Trukhin, I.A. Narkevich, I.I. Basakina</i>
АНАЛИЗ СИСТЕМНОЙ ГОТОВНОСТИ ПЕРСОНАЛА К ИЗМЕНЕНИЯМ НА ПРИМЕРЕ ЭКСПОРТНО ОРИЕНТИРОВАННОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ	ANALYSIS OF THE PERSONNEL'S CONSISTENT READINESS FOR CHANGES AS ILLUSTRATED BY THE EXAMPLE OF AN EXPORT-ORIENTED BIOTECHNOLOGICAL ENTERPRISE
495	495

Фармакогнозия, ботаника / Pharmacognosy, Botany

<i>Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная, Э.М. Мачс, В.В. Коцербуа</i>	<i>D.R. Imachueva, F.K. Serebryanaya, E.M. Machs, V.V. Kotseruba</i>
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ НА ПРИМЕРЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ В ПРЕДЕЛАХ РОДА <i>HEDYSARUM</i> L.	USE OF SEQUENCING METHODS FOR SPECIES IDENTIFICATION EXEMPLIFIED BY PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS WITHIN GENUS <i>HEDYSARUM</i> L.
506	506

УДК 615.322:[582.998.1+582.751.2](571.5)



НЕКОТОРЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ ПОДСЕМЕЙСТВА *ASTEROIDAE* (*ASTERACEAE*) И РОДА *GERANIUM* (*GERANIACEAE*) ПРИБАЙКАЛЬЯ (ОБЗОР)

Е.Г. Привалова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
664003, Россия, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 1

E-mail: eleprivalova@yandex.ru

Получена 20.06.2020

После рецензирования 26.10.2021

Принята к печати 01.11.2021

Цель. В обзоре представлен анализ состояния изученности растений *Heteropappus altaicus* (Willd.) Novopork. (гетеропаппус алтайский), *Solidago dahurica* L. (золотарник даурский), *Leucanthemum vulgare* Lam. (нивяник обыкновенный), *Tripleurospermum inodorum* (L.). (трехреберник непахучий), *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. (кошачья лапка двудомная), *Leontopodium conglobatum* (Turcz.) Hand.-Mazz. (эдельвейс скученный) (*Asteraceae* – сложноцветные) и *Geranium eriostemon* Fischer. (герань волосистотычинковая), *G. pratense* L. (г. луговая), *G. wlassowianum* Fisch. ex Link. (г. Власова) (*Geraniaceae* – гераниевые).

Материалы и методы. Для составления обзора использовали сведения научной литературы из открытых и доступных источников, размещенных в научных библиотеках учреждений, в электронных базах данных и поисковых системах: флористические сводки «Флора Сибири»; «Флора Центральной Сибири»; Электронная библиотека Сибирского отделения Российской академии наук; Elibrary; PubMed; Scopus, КиберЛенинка; Google-Академия; The Plant List; Global Compositae Checklist. Поиск осуществлялся по публикациям за период с 2009 по 2020 гг. по информационным запросам названий семейств и подсемейств, названий видов растений, биологически активных соединений на английском, латинском и русском языках.

Результаты. Проведен сравнительный анализ морфологических признаков, общепринятых видовых названий и синонимов перечисленных видов. Для изучаемых объектов характерно присутствие полифенольных соединений и веществ тритерпеновой структуры. В частности, флавоноидов, гидроксикоричных кислот, танидов. Кроме того, у представителей подсемейства *Asteroidae* (астровые) отмечается накопление эфирного масла, а у представителей рода *Geranium* (герань) – антоцианов. Спектр фармакологической активности охватывает противовоспалительное, желчегонное, антимикробное, спазмолитическое и другие виды действия.

Заключение. Представленный обзор позволяет сделать вывод об определенном уровне изученности региональных представителей подсемейства *Asteroidae* и рода *Geranium*. Это обуславливает перспективность данных растительных объектов для дальнейшего фармакогностического и фармакологического исследования и создания на их основе лекарственных препаратов – источников полифенольных соединений.

Ключевые слова: подсемейство *Asteroidae*; род *Geranium*; биологически активные соединения; фитотерапия

Список сокращений: БАС – биологически активные соединения; ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ГЖХ/МС – газожидкостная хроматография / масс-спектрометрия; GC-FID – газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором; GC-MS – газовая хроматография – масс-спектрометрия; A. – *Antennaria* (н-р, A. *dioica*); C. – *Chrysanthemum* (н-р, C. *dentatum*); Ch. – *Chamomilla* (н-р, Ch. *Inodora*); G. – *Geranium* (н-р, G. *pratense*); H. – *Heteropappus* (н-р, H. *altaicus*); K. – *Kalimeris* (н-р, K. *altaica*); L. – *Leucanthemum* (н-р, L. *vulgare*), M. – *Matricaria* (н-р, M. *perforata*), S. – *Solidago* (н-р, S. *dahurica*), P. – *Pyrethrum* (н-р, P. *elegans*); T. – *Tripleurospermum* (н-р, T. *inodorum*).

Для цитирования: Е.Г. Привалова. Некоторые представители подсемейства *Asteroidae* (*Asteraceae*) и рода *Geranium* (*Geraniaceae*) Прибайкалья (обзор). *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):426-440. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-426-440

© Е.Г. Привалова, 2021

For citation: E.G. Privalova. A few representatives of *Asteroidae* (*Asteraceae*) subfamily and *Geranium* (*Geraniaceae*) genus in the Baikal region (review). *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):426-440. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-426-440

A FEW REPRESENTATIVES OF ASTEROIDEAE (ASTERACEAE) SUBFAMILY AND GERANIUM (GERANIACEAE) GENUS IN THE BAIKAL REGION (REVIEW)

E.G. Privalova

Irkutsk State Medical University
1, Krasnoye Vosstaniye St., Irkutsk, Russia, 664003

E-mail: eleprivalova@yandex.ru

Received 20 Juny 2020

After peer review 26 Oct 2021

Accepted 01 Nov 2021

The aim of the article was to analyze the state of knowledge of the following plants: *Heteropappus altaicus* (Willd.) Novopokr., *Solidago dahurica* L., *Leucanthemum vulgare* Lam., *Tripleurospermum inodorum* (L.), *Antennaria dioica* (L.) Gaertn., *Leontopodium conglobatum* (Turcz.) Hand.-Mazz. and *Geranium eriostemon* Fischer., *G. pratense* L., *G. wlassowianum* Fisch. ex Link. (*Geraniaceae*).

Materials and methods. To compile the review, the information from the following scientific open and available literature sources placed in scientific libraries of institutions, in electronic databases and search systems, was used: floristic summaries "Flora of Siberia"; "Flora of Central Siberia"; Electronic library of the Siberian branch of the Russian Academy of Sciences; Elibrary; PubMed; Scopus; CyberLeninka, Google Academy; The Plant List, Global *Compositae* Checklist. The search carried out, was based on the publications for the period of 2009–2020, on the information requests for names of families and sub-families, names of plant species, biologically active compounds in English, Latin and Russian.

Results. A comparative analysis of morphological characters, common species names and the synonyms for the listed species, has been carried out. The studied objects are characterized by the presence of polyphenolic compounds and substances of a triterpene structure, in particular, flavonoids, hydroxycinnamic acids, tannides. In addition, the representatives of the *Asteroideae* subfamily (*Asteraceae*) show the accumulation of essential oils, and the representatives of the *Geranium* genus (*geranium*) show the accumulation of anthocyanins. The spectrum of the pharmacological activity includes anti-inflammatory, choleric, antimicrobial, antispasmodic and other types of effects.

Conclusion. The presented review makes it possible to arrive at the conclusion about a certain knowledge level of the regional representatives of the *Asteroideae* subfamily and the *Geranium* genus. This determines the prospects of these plant objects for further pharmacognostic and pharmacological research and the creation of drugs on their basis – the sources of polyphenolic compounds.

Keywords: *Asteroideae* subfamily; *Geranium* genus; biologically active compounds; phytotherapy

Abbreviations: BAC – biologically active compound; HPLC – high performance liquid chromatography; GLC / MS – gas liquid chromatography – mass spectrometry; GC-FID – gas chromatograph with a flame ionization detector; GC-MS – gas chromatography – mass spectrometry; A. – *Antennaria* (e.g., *A. dioica*); C. – *Chrysanthemum* (e.g., *C. dentatum*); Ch. – *Chamomilla* (eg, *Ch. Inodora*); G. – *Geranium* (e.g., *G. pratense*); H. – *Heteropappus* (e.g., *H. altaicus*); K. – *Kalimeris* (e.g., *K. altaica*); L. – *Leucanthemum* (e.g., *L. vulgare*); M. – *Matricaria* (e.g., *M. perforata*); S. – *Solidago* (e.g., *S. dahurica*); P. – *Pyrethrum* (e.g., *P. elegans*); T. – *Tripleurospermum* (e.g., *T. inodorum*).

ВВЕДЕНИЕ

По прогнозам Всемирной организации здравоохранения¹, удельный вес фитопрепаратов постоянно растет и достигает 60% в общем ассортименте лекарственных средств. Это обеспечивается их объективными преимуществами и возможностями [1]. В медицинской практике Российской Федерации используется около 20 тысяч лекарственных средств, среди которых более 40% производится из лекарственного растительного сырья. Традиционные медицинские системы многочисленных национальных этносов (тибетского, бурятского, русского и др.), опираются, в первую очередь, на природные ресурсы [2–4].

В настоящее время в научной литературе большое внимание уделяется изучению метаболитов

растительных объектов как эффективных антиоксидантов. Основными представителями таких природных веществ являются полифенольные соединения – флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, таниды, кумарины. В сравнении с другими природными соединениями, они обладают наибольшей распространённостью, значительным структурным разнообразием и разносторонними фармакологическими свойствами. Полифенольные соединения обуславливают антиоксидантное, кардиотропное, ангиопротекторное, капилляроукрепляющее, гепатопротекторное, желчегонное, мочегонное и другие важнейшие эффекты [5–7]. Следует отметить, что в растительном сырье присутствует смесь метаболитов полифенольного характера. Данное обстоятельство сказывается на специфике фармакологического действия и формирует научную основу для моделирования и создания новых эффективных растительных препаратов [1, 5–10].

¹ Стратегия ВОЗ в области народной медицины, 2014–2023 гг. – Издание ВОЗ, 2013. – 72 с.

В связи с этим, актуальным является поиск новых видов растительного сырья, содержащего полифенольные соединения, применяемого для лечения наиболее распространенных заболеваний.

В данном контексте наибольший интерес вызывают некоторые виды семейств сложноцветных (*Asteraceae* или *Compositae*) и гераниевых (*Geraniaceae*), произрастающие в Прибайкалье. В частности, гетеропантус алтайский – *Heteropappus altaicus* (Willd.) Novopokr.; золотарник даурский – *Solidago dahurica* L.; нивяник обыкновенный – *Leucanthemum vulgare* Lam.; трехреберник непахучий – *Tripleurospermum inodorum* (L.); кошачья лапка двудомная – *Antennaria dioica* (L.) Gaertn.; эдельвейс скученный – *Leontopodium conglobatum* (Turcz.) Hand.-Mazz. (*Asteraceae*, *Asteroidae*); герань волосистотычинковая – *Geranium eriostemon* Fischer.; г. луговая – *G. pratense* L.; г. Власова – *G. wlassowianum* Fisch. ex Link. (*Geraniaceae*, *Geranium*).

ЦЕЛЬ. Обзор и анализ данных отечественной и зарубежной научной литературы о современном состоянии изученности растений Прибайкалья как перспективных источников полифенольных соединений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для составления обзора использовали сведения научной литературы из открытых и доступных источников, размещенных в научных библиотеках учреждений, в электронных базах данных и поисковых системах: флористические сводки «Флора Сибири»; «Флора Центральной Сибири»; Электронная библиотека Сибирского отделения Российской академии наук; Elibrary; PubMed; Scopus; Киберленинка; Google-Академия; The Plant List; Global *Compositae* Checklist. Поиск осуществлялся по публикациям за 2009-2020 гг. по информационным запросам названий семейств и подсемейств, названий видов растений, биологически активных соединений на английском, латинском и русском языках.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Подсемейство *Asteroidae*

Астровые (*Asteraceae* или *Compositae*) – одно из самых крупных семейств двудольных растений, широко представленное во всех флористических системах Земли. *Asteraceae* включает 32913 видов, объединённых в 1911 родов [11]. Это составляет приблизительно 8% всех известных цветковых растений [12].

Представители *Asteraceae* активно участвуют в строительстве фитоценозов, часто обладают выраженной приуроченностью к местам с определенными экологическими факторами. Некоторые виды являются эндемиками, реликтами, натурализовавшимися или одичавшими, а также заносными в результате антропогенной деятельности [13].

Многоцветковое соцветие – корзинка – один из приоритетных признаков этого семейства. Корзинка представляет собой укороченное общее цветоложе,

на котором собраны мелкие цветки (язычковые и ложноязычковые, трубчатые и воронковидные). Часто корзинки группируются в сложные агрегатные соцветия – колосья, кисти, метелки, цимоиды или головки. В свою очередь, семейство *Asteraceae*, в зависимости от вида цветков, входящих в соцветие, подразделяется на 2 крупных подсемейства:

– подсемейство *Asteroidae* Lindl. (*Tubuliflorae*) (Астровые) – в соцветии цветки трубчатые, воронковидные, ложноязычковые;

– подсемейство *Lactucoideae* L. (*Liguliflorae*) (Латуковые) – в соцветии цветки язычковые, имеется млечный сок [14].

Многие представители семейства *Asteraceae*, подсемейств *Asteroidae* и *Lactucoideae*, являются официальными и включены во все выпуски Государственной фармакопеи нашей страны. В настоящее время в качестве источников лекарственного растительного сырья в России разрешено к применению около 30 видов растений этого семейства^{2,3,4}. Фармакопейные представители астровых применяются в качестве витаминных и потогонных (*Calendulae officinale flores* – Календулы лекарственной цветки, *Bidentis tripartitae herba* – череды трехраздельной трава), желчегонных и гепатопротекторных (*Tanacetum vulgare flores* – Пижмы обыкновенной цветки, *Helichrisi arenarii flores* – Бессмертник песчаного цветки, *Silibi mariani fructus* – Расторопши пятнистой плоды и др.), противовоспалительных (*Chamomillae recutita flores* – Ромашки аптечной цветки), мочегонных и желчегонных (*Arctii radices* – Лопуха корни), противовоспалительных и отхаркивающих (*Tussilaginis farfarae folia* – Мать-и-мачехи листья), кровоостанавливающих (*Arnicae montana flores* – Арники горной цветки), иммуностимулирующих (*Echinaceae purpureae herba* – Эхинацеи пурпурной трава), а также источников препаратов, обладающих спазмолитическим и М-холинолитическим действием (*Senecionis platyphylloides herba* – Крестовника плосколистной трава) и др. Основные группы биологически активных соединений этих растений – витамины, флавоноиды, дубильные вещества, эфирные масла, алкалоиды, полисахариды.

Растения подсемейств *Asteroidae* и *Lactucoideae* встречаются во всех областях Прибайкальского региона. Превалирует подсемейство *Asteroidae* (*Tubuliflorae*) – около 85% из всех родов (или 61) семейства *Asteraceae*. Постоянство их положения в экологических системах Сибири является основой давнего использования видов *Asteroidae* в народной медицине этого региона. В качестве лечебных описано около 20 представителей данного подсемейства, в основном из родов *Solidago* L. – Зо-

² Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIII изд. М., 2015. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://193.2327\(13\)](http://193.2327(13)).

³ Государственная фармакопея Российской Федерации / МЗ РФ. XIV изд. Т. I–IV. М., 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://193.232.7.120\(14\)](http://193.232.7.120(14)).

⁴ Государственный реестр лекарственных средств. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru>.

лотарник; *Tripleurospermum* Sch.Bip. – Трехреберник; *Leucanthemum* Mill. – Нивяник; *Heteropappus* Less. – Гетеропаппус; *Leontopodium* L. – Эдельвейс; *Antennaria* Gaertn. – Кошачья лапка [15–17].

Анализ доступных источников литературы показал, что виды *H. altaicus*, *S. dahurica*, *L. vulgare*, *T. inodorum*, *A. dioica*, *L. conglobatum* имеют специфику использования в народной и традиционной медицине, популярны для лечения заболеваний пищеварительной и мочеполовой системы и являются объектами для изучения в различных научных областях.

Antennaria dioica (L.) Graeth.

Во «Флоре Центральной Сибири» [18] и Электронной библиотеке Сибирского отделения Российской Академии наук (ЭБ СО РАН) [19] описано три вида, относящихся к роду *Antennaria* (L.) Gaertn. – *A. monocephala* DC. (к.л. одноголовая), *A. dioica* (D. Don) Greene и *A. villifera* Boriss. (к.л. ворсоносная). В списке тома 13 «Флоры Сибири» [13] дополнительно включен *A. friesiana* (Trautv.) Ekman. (к.л. узколистная). В народной медицине более популярен вид *A. dioica* (L.) Graeth [20]. Синонимичными названиями этого вида являются: *A. dioica* var. *australis* Gris.; *A. dioica* var. *corymbosa* (E.E. Nelson) Jeps.; *A. dioica* var. *Dioica*; *A. dioica* var. *hyperborea* (D. Don) Greene.; *A. dioica* var. *hyperborea* (D. Don) DC.; *A. dioica* var. *kernensis* Jeps.; *A. dioica* var. *marginata* (Greene) Jeps.; *A. dioica* var. *parvifolia* (Nutt.) Torr. & A. Gray.; *A. dioica* var. *rosea* (Greene) D.C. Eaton; *A. dioica* var. *rosea* Cockerell. [11, 19].

Распространение *A. dioica* в прибайкальском регионе – все районы Среднесибирского плоскогорья, встречается в Саянах и Саянско-Байкальском районе, Байкальском и Становом нагорьях, а также степных районах Бурятии. Предпочитает следующие места обитания – сухие склоны тундры, боры, опушки леса, сухие луга, каменисто-щебнистые, редколесья [13, 18, 19]. Кроме того, произрастает в разных странах: Китай, Япония, Казахстан, Монголия, Европа, Северная Америка (Аляска) [21]. Методом ГЖХ/МС выявлено наличие сахаров – D-глюкозы, D-сахарозы и миоинозитола. Аминокислотный комплекс включает шестнадцать свободных и семнадцать связанных аминокислот. По содержанию преобладали L-глутаминовая кислота (до 7,38±0,20 мкг/мг) и L-аспарагиновая кислота (до 5,38±0,12 мкг/мг) [22, 23].

Из надземных органов *A. dioica* выделены представители полифенолов, в частности, фенолкарбоновые кислоты – кофейная и хлорогеновая; флавоноиды – апигенин, лютеолин, 7-глюкозид и 4'-глюкозид апигенина, 7,4'-диглюкозид лютеолина, 7-O-β-D-глюкозид и 4'-O-β-D-глюкозид лютеолина. Вместе с тем обнаружены тритерпеновые соединения, такие как урсоловая кислота и лупеол, стероиды – β-ситостерин, ситостерол-3-O-глюкопиранозид (даукостерин), обладающие антибактериальной активностью [22, 24].

Изучен состав флавоноидов, кумаринов и ги-

дроксикоричных кислот *A. dioica*, произрастающей на территории Вижницкого района Черновицкой области (Украина). Методом ВЭЖХ обнаружены розмариновая, кофейная, феруловая, кумаровая, хлорогеновая кислоты, кверцетин-3-D-глюкозид, лютеолин, рутин, гиперозид, кверцетин, апигенин, а также умбеллиферон и кумарин [25].

При изучении литературных источников были найдены сведения о содержании дубильных веществ, флавоноидов, витамина К, смол и горечи [24].

Отмечено, что содержание селена может составлять до 0,012% от сухой фитомассы. Таким образом, *A. dioica* считается источником этого элемента – важного микрокомпонента в питании животных и человека [26].

Традиционная медицина предлагает использовать надземную часть *A. dioica* (D. Don) Greene – цветочные корзинку и траву. Они применяются в виде настоя внутрь; наружно в виде порошка, кашицы из сырья и примочек [21]. Извлечения из травы этого растения обладают вяжущим действием. Их принимают внутрь при дизентерии, поносах, гастритах, язве желудка и двенадцатиперстной кишки. Настой травы используют как противовоспалительное и мягчительное средство в виде полосканий и припарок при ангинах, тонзиллитах, стоматитах, зобе, абсцессах, гнойных ранах, опухолях молочной железы и как болеутоляющее при подагре. Траву в свежем виде наносят на десну для снятия зубной боли. Кашицу из свежих листьев прикладывают к пальцам при панариции, а порошком из высушенных листьев присыпают раны. Настой в виде примочек используют при глазных болезнях, в виде спринцеваний – при гонорее и белях. В прошлом лекари и знахари советовали жевать цветы и принимать настой при эпилепсии и других заболеваниях нервной системы [21].

Калининым Е.П. с соавторами был подтвержден гемостатический эффект БАС *A. dioica* *in vitro* и *in vivo*. Установлено, что антикоагулянтную активность проявляет фракция белково-пептидной природы [27].

Проведены морфолого-анатомические исследования надземных органов *A. dioica* с целью установления диагностических признаков вегетативных органов [28, 29].

Leucanthemum vulgare (Vaill.) Lam.

L. vulgare, наряду с видом *T. inodorum*, является примесью к официальному сырью *Chamomillae recutitae flores* и *Chamomillae suaveolentis flores*^{5,6,7,8}. Однако они также являются объектами научных исследований.

L. vulgare (*L. vulgare* (Vaill.) Lam.) – единственный вид в роде *Leucanthemum*, представленный на терри-

⁵ ГОСТ 2237-93. Цветки ромашки. Технические условия. 10 с.

⁶ Государственная фармакопея Российской Федерации/ МЗ РФ. XIII изд. М., 2015.

⁷ Государственный реестр лекарственных средств.

⁸ Регистр лекарственных средств России. РЛС Энциклопедия лекарств. Вып.26. / М., 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.rlsnet.ru/news_101979.htm

тории Прибайкалья (Восточной Сибири). Народное название нивяника обыкновенного — поповник.

В базе данных «The Plant List» указано 37 синонимов этому названию, среди которых 3 несут статус неподтвержденных или используемых без согласования с правилами Международного кодекса ботанической номенклатуры (см. п. 1, 3, 15) [11]: *Bellis major Garsault* [Invalid], *Chamaemelum leucanthemum* (L.) E.H.L.Krause, *Chrysanthemum dentatum* Gilib. [Invalid], *C. ircutianum* Turcz., *C. lanceolatum* Vest, *C. lanceolatum* Pers., *C. leucanthemum* L., *C. leucanthemum* var. *boecheri* B.Boivin, *C. leucanthemum* subsp. *lanceolatum* (DC.) E.Mayer, *C. leucanthemum* subsp. *leucanthemum*, *C. leucanthemum* var. *leucanthemum*, *C. leucanthemum* f. *leucanthemum*, *C. leucanthemum* var. *pinnatifidum* Lecoq & Lamotte, *C. leucanthemum* var. *subpinnatifidum* Fernald, *C. montanum* Willd. [Illegitimate], *C. montanum* var. *heterophyllum* (Willd.) Koch, *C. praecox* (M.Bieb.) DC., *C. pratense* Salisb., *C. sylvestre* Willd., *C. vulgare* (Lam.) Gaterau., *C. vulgare* var. *vulgare*, *Leucanthemum atratum* var. *heterophyllum* (Willd.) Rouy, *L. lanceolatum* DC., *L. leucanthemum* (L.) Rydb. [Illegitimate], *L. praecox* (Horvatić) Villard, *L. vulgare* subsp. *heterophyllum* (Willd.) Soó, *L. vulgare* subsp. *incisum* Arcang., *L. vulgare* var. *pinnatifidum* (Lecoq & Lamotte) Moldenke, *L. vulgare* subsp. *praecox* Horvatić, *L. vulgare* var. *vulgare*, *L. vulgare* subsp. *vulgare*, *Matricaria leucanthemum* (L.) Scop., *M. leucanthemum* (L.) Desr., *Pontia heterophylla* (Willd.) Bubani, *P. vulgaris* Bubani, *Pyrethrum leucanthemum* (L.) Franch., *Tanacetum leucanthemum* (L.) Sch.Bip.

L. vulgare имеет плоды – семянки серого цвета, до 2 мм длиной, с 5–10 ясно выраженными рёбрышками, коронка отсутствует, как правило, лишь иногда у семян язычковых цветков обнаруживается однобокая коронка. Представители с однобокой коронкой семянки описаны из Иркутской области для вида *L. ircutianum* DC и встречаются спорадически по всему ареалу *L. vulgare* во всех районах Сибири. Причём, наличие этого признака варьирует даже внутри популяции, что позволяет рассматривать *L. ircutianum* как разновидность или *L. vulgare* var. *ircutianum* (DC) Krylov. [13, 19].

Ареал нивяника обыкновенного охватывает западную и южную части Среднесибирского плоскогорья, непосредственно Саяны и Саяно-Байкальский район, Байкальское нагорье в его западной части и северную часть Северо-Байкальского нагорья. Места обитания – луга, луговые склоны, лесные поляны, в межах, часто является рудеральным видом [13]. Проведена оценка сырьевых запасов данного вида в Иркутской области [30].

L. vulgare ранее имел распространение по всей Европе (за исключением арктической зоны) и в большей части Азии (исключая арктическую зону) в начале прошлого века. Благодаря антропогенной деятельности, в том числе глобализации миграционных процессов, этот вид был занесен и в другие климатические зоны, континенты (Северная Америка). В любом случае, он представлен как светолюбивое

растение, предпочитающее также луга, лесостепи, горные и субальпийские районы. В местах хозяйствования человека или на рудеральных территориях встречается по обочинам дорог, окраинам полей, на залежах, в посевах, на пастбищах и лугах. Очень хорошо распространяется на плодородных почвах, характеризуется как сорнополевое [31].

L. vulgare входит в арсенал средств народной медицины России, Азербайджана Грузии, Италии, Америки, Канады, Албании, Сербии и др. [36–38]. По данным авторов Телятьева В.В., Минаевой В.Г., основными действующими веществами являются алкалоиды, инулин, в листьях обнаружены аскорбиновая кислота и каротин, в семенах – 11% жирного масла, красящие вещества (в цветках) [24]. Исследователи проявляют интерес к различным группам органических соединений этого вида. Из надземных органов выделены компоненты алициклического строения: гексадекациклобута[1.2:3.4]бициклооктен, 13-гексилосакиклотридец-10-ен-2-он (ароматический компонент). Среди полииновых соединений обнаружен (Z)-ен-ин-бициклоэфир, а группу алифатических углеводов и альдегидов составили *n*-нонадекан, диметилпентадекан, *n*-эйкозан, *n*-трикозан, *n*-пентакозан, *n*-октаналь, *n*-ундеканаль, *n*-пентадеканаль, (E,E)-2,4-декадиеналь, *n*-тридеканаль. Химический состав первичных метаболитов надземных органов *L. vulgare* характеризуется присутствием высших жирных кислот, таких как октановая, нонановая, декановая, *n*-ундекановая, *цис*-линолевая, рауриновая, миристиновая, пальмитиновая и их производных – 2-метилбутил-2-метилбутират, изоамилизовалерианат, 1-октенилацетат, *n*-пентилизовалерианат, γ -пальмитолактон [35].

Эфирное масло соцветий *L. vulgare* содержится в количестве не превышающем 0,5% и включает в свой состав терпеноиды – моно- и сесквитерпены: сабинен, мирцен, *n*-цимен, лимонен, (E)- β -оцимен, 1,8-цинеол, терпинен-4-ол, α -терпниол, геранилацетат, геранилизовалерианат, α -кубебен, α -копаен, (E)- β -кариофиллен, аромадендрен, α -гумулен, (E)- β -фарнезен, гермакрин, α -аморен, α -мууролон, δ -кадинен, γ -кадинен, изофоруинон, элемол, оксид кариофиллена, 1,2-эпоксид гумулена, γ -эудесмол, γ -кадинол, (Z)-ланцеол, хамазулен, оксид А бизаболола, гексагидрофарнезилацетон, фарнезен, фарнезол, неролидол, α -бизаболол [36]. Проведено исследование эфирного масла цветков *L. vulgare*, произрастающего на территории Эстонии. Методами газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием GC-FID и массовой спектрометрией GC-MS в нем было идентифицировано 115 соединений. Установлено, что в составе эфирного масла, *L. vulgare* большую часть составляли (E)- β -farnesene (7,3%), hexadecahydrocyclobuta, dicyclooctene (5,3%), decanoic acid (4,9%), γ -eudesmol (4,5%) [36].

Изучен состав эфирного масла из надземных органов *L. vulgare*, произрастающего на территории провинции Ардебаль (Иран). В его составе идентифи-

цировано 47 соединений, среди которых преобладали *caryophyllene oxide* (21,2%), *aromadendrene oxide* (13,7%), *cis-β-farnesene* (6,5%), *1-octen-3-yl-acetate* (5,6%) и *trans-caryophyllene* (4,9%). По мнению авторов, результаты доказывают наличие хеморас данного вида растения [37].

Полифенольные соединения, обнаруженные в надземных органах *L. vulgare*, представлены флавоноидами, фенолкарбоновыми кислотами, кумаринами. Из цветков *L. vulgare*, произрастающего на территории Грузии, были выделены следующие флавоноиды: апигенин, космосин, 7-О-(3-Д-глюкуро-нид) апигенина, витексин, рутин, гиперин, гиперозид, кверцетин, лютеолин, изорамнетин, 7-О-β-Д-глюкопиранозид апигенина, хризин, 7-О-(3-Д-глюкуро-нид) хризина [38, 39]. В трубчатых цветках обнаружены фенолкарбоновые кислоты – хлорогеновая и кофейная, кумарины представлены умбеллифероном и скополетином [38, 39].

Отмечается, что народной медицине Грузии и Прибайкалья водные извлечения из травы *L. vulgare* применяют при лихорадочных состояниях, простуде, кашле, туберкулезе легких, заболеваниях глаз, недержании мочи, коликах желудочно-кишечного характера, мигрени, удушье, при болях и т. д. Отвар и настой травы назначают при заболеваниях глаз, грыже, геморрое. Кроме того, траву и цветки используют наружно – при кожных сыпях, лишаях, язвах, для купания маленьких детей при спазмах кишечника и судорогах. При кожных заболеваниях наносят смесь, состоящую из измельченной травы (вместе с цветочными корзинками), растертой со сливочным маслом [15, 16, 39]. Проведены исследования влияния сырой нефти на жизнеспособность *L. vulgare*. Установлено, что данный вид способен не только выживать в почве, подверженной воздействию сырой нефти, но и снижать концентрацию этого загрязнителя в почве. Корни *L. vulgare* успешно образовывали симбиоз с микоризой. При этом показана положительная корреляция между концентрацией соединений – антиоксидантов (полифенолов в т.ч.) и остаточным уровнем концентрации нефти в почве. Результаты показали, что *L. vulgare* может выживать в условиях загрязнения нефтепродуктами и способствовать уменьшению их содержания в субстрате [40].

Tripleurospermum inodorum (L.)

По данным «Флоры Центральной Сибири» род *Tripleurospermum* подсемейства *Asteroideae* имеет только одного представителя – *Tripleurospermum inodorum* (L.) [18]. Согласно флористической сводке «Флора Сибири» [13], род имеет название *Matricaria* L. (*Tripleurospermum* Sch.Bip.) и включает три секции, две из которых распространены в Сибири наполняемостью по одному виду – *Matricaria perforata* = *m. inodora* = *tripleurospermum inodorum* из секции *Matricaria* (*Tripleurospermum*), и *m. tetragonosperma* = *tripleurospermum tetragonosperma* (т. четырехугольно-носемянный) из секции *Tetragonosperma*. Однако во

«Флору Сибири» вид *T. inodorum* включен условно, так как авторами отмечено его возможное присутствие на востоке Якутии. Синонимы описываемого вида [13] – *Chamomilla inodora* (L.) Gilib. [Invalid], *Ch. inodora* (L.) K. Koch, *Chamaemelum inodorum* (L.) Vis., *Ch. inodorum* var. *inodorum*, *Chrysanthemum inodorum* (L.) L., *Ch. maritimum* var. *inodorum* (L.) Bech., *Dibothrospermum agreste* Knaf., *D. pusillum* Knaf., *Matricaria inodora* L., *M. inodora* var. *agrestis* Weiss., *M. inodora* f. *agrestis* (Weiss) Fiori & Paol., *M. inodora* f. *biennis* Fiori & Paol., *M. inodora* f. *inodora*., *M. inodora* var. *inodor*, *M. inodora* var. *pusilla* Fiori, *M. maritima* var. *agrestis* (Knaf) Wilmott., *M. maritima* subsp. *inodora* (L.) Soó., *M. maritima* subsp. *inodora* (L.) Clapham., *M. maritima* var. *inodora* (L.) Soó, *M. perforata* Mérat., *M. pumila* Nyman., *Pyrethrum elegans* Pollini, *P. inodorum* (L.) Moench., *P. inodorum* var. *inodorum*, *Rhytidosperrum inodorum* Sch.Bip. (не разрешен к использованию), *Tripleurospermum maritimum* var. *agreste* (Weiss) Briq. & Cavill. *T. maritimum* subsp. *inodorum* (L.) Appleg., *T. maritimum* var. *pusillum* (Knaf) Briq. & Cavill., *T. perforatum* (Mérat) M. Laínz, *T. perforatum* (Mérat) Wagenitz (наименование не разрешено к использованию).

В Иркутской области *T. inodorum* распространен в западной и южной частях Среднесибирского плоскогорья и на Южном побережье озера Байкал. Основные места обитания – по канавам, берегам рек, по пустырям и в близи дорог, по опушкам и полянам светло- и темнохвойных, а также мелколиственных лесов. Так как растение является неприхотливым в экологическом плане (ксеро-мезофит, мезотроф), то часто заселение этим видом носит антропогенный характер [13, 18].

Распространяется семенами, при этом одно растение может дать огромное количество семян – по разным данным от 50 000–200 000 до 1,5 млн. и более. Семена, находящиеся в почве, длительно сохраняют всхожесть (до 7 лет). Благодаря холодостойкости семена прорастают рано и достаточно дружно при пониженной температуре почвы, хорошо перезимовывают. *T. inodorum* является сорным видом в агропроизводстве. Засоряет не только зерновые, но и пропашные культуры. В Нечерноземной зоне сильнее всего засоряет посевы важных многолетних трав (клевера и люцерны) и озимых зерновых. Отрицательное воздействие сказывается и в том, что *T. inodorum* потребляет влаги в 2 раза больше, чем овес и яровая пшеница, что отрицательно влияет на урожай. Вместе с тем, это говорит об экологической устойчивости описываемого вида. Экологические особенности этого представителя подсемейства *Asteroideae* служат основанием их быстрого введения в культуру, в том числе с целью создания дополнительной сырьевой базы лекарственных растений [30].

Кроме Восточной Сибири к основным районам распространения *T. inodorum* относятся – Западная Европа, Атлантическая Европа, Балканы, Малая Азия, Северная Америка, европейская часть России, Кавказ, Западная Сибирь, Дальний Восток (как заносное) [21].

Анализ сведений из доступных источников литературы показал, что *T. inodorum* содержит эфирное масло, пиретрин и близкие к нему соединения, горечь, слизь, камедь, алкалоиды, аскорбиновую кислоту; жирное масло (в семенах до 20%) [21].

Подробно исследован состав эфирного масла *T. inodorum*, произрастающего в Эстонии. Содержание эфирного масла не превышало 0,2%. Основными компонентами являются моно- и сесквитерпеноиды, в частности: *E*- β -оцимен, артемизиакетон, пинкарвон, гераниизобутаноат, β -кариофиллен, аромандрен, α -гумулен, *E*- β -фарнезен, гермакрен *D*, бициклогермакрен, α -аморфен, спатуленол, оксид кариофиллена, эпоксид транс- α -бизаболена, виридифлорол, *Z*- α -бергамотол, γ -эудесмол, γ -кадинол, хамомиллол, (*Z*)-ланцеол, оксид А бизаболола, оксид В бизаболола, оксид А бизаболона, оксид 2 аромандрена, эпоксид аллоаромандрена, фарнезилацетат, гексагидрофарнезилацетон.

Сравнение составов эфирного масла цветков *T. inodorum* и эфирного масла официальных видов *Chamomilla recutita* и *Ch. suaveolens* показало их значительную схожесть. В цветках *T. inodorum* большую часть составляли (*Z,Z*)-*matricaria ester* (77,9%), (*E*)- β -*farnesene* (3,5%), *matricaria ester isomer* (3,5%), *matricaria lactone* (3,0%) [36, 41].

Другие группы химических соединений, обнаруженные в *T. inodorum*, представлены производными бензола – бензилбензоат; ароматическим соединением – 1,3,4,5,6,7-гексагидро-2,5,5-триметил-2*H*-2,4а-этанонафталин; производным фурана – 2-пентилфуран. Вместе с тем обнаружены соединения алифатического ряда: *n*-октадекан, *n*-нонадекан, *n*-эйкозан, *n*-трикозан, *n*-пентакозан, 6-метил-5-гептен-2-он; жирные кислоты и их производные: декановая, *цис*-линолевая, 2-метилбутил-2-метилбутират, изоамилизовалерианат, 2-пентилизовалерианат, *цис*-гексенилизовалерианат, γ -пальмитолактон. Из группы фенолпропаноидов, в том числе полифенольных соединений, выявлено присутствие изоэвгенола; 8-метилкумарина, космосиина и цинарозида в соцветиях [42].

Кроме того, в трудах группы эстонских исследователей имеются сведения о наличии в корнях и наземной части *T. inodorum* такой специализированной группы химически активных природных соединений как полиацетилены: *транс*-метил-2-децен-4,6,8-трионат; матрикариаэфир, (*Z,Z*)-матрикариаэфир, дигидроматрикариаэфир, (*Z*)-лахнофиллум-метилловый эфир, (*E*)-лахнофиллум-метилловый эфир, (*Z*)-ен-ин-бициклоэфир, (*E*)-ен-ин-бициклоэфир; 2*цис*,8*цис*-матрикариаэфир, 8*цис*- α , β -дигидроматрикариаэфир, 2*Z*,8*Z*-матрикариаэфир, 8*Z*-2,3-дигидроматрикариаэфир, (2*E*)-лахнофиллумэфир, (2*Z*)-лахнофиллумэфир, (2*E*)-дигидроматрикариаэфир, (5*E*,9*Z*)-матрикариалактон [36, 42]. На базе Брянской государственной сельскохозяйственной академии изучался минеральный состав сорных растений, в том числе *T. inodorum*. В результате установлено, что в процессе развития и роста в наземной части этого вида накапливаются натрий,

магний, фосфор, сера, кремний, марганец, медь, молибден в больших концентрациях [43].

При сравнительном фитохимическом исследовании установлено, что количество флавоноидов в цветках *T. inodorum* превышает содержание этой группы БАС в цветках *Ch. recutita* [44, 45].

В народной медицине трава *T. inodorum* используется в качестве болеутоляющего, противовоспалительного, мочегонного, ранозаживляющего, спазмолитического, противоглистного, а также инсектицидного средства [21].

Heteropappus altaicus (Willd.) Novopokr.

Род *Heteropappus* Less. на территории Прибайкалья представлен тремя видами – *Heteropappus hispidus* (Thunb.) Lees. (гетеропаппус щетинистоволосистый), *H. tataricus* (Lindl.) (г. татарский) и *H. altaicus* (Willd.) Novopokr. [21]. «Флора Сибири» [13], включающая описание западно- и восточносибирских растений и ЭБ СО РАН [19], описывают 3 вида – *H. biennis* (Ledeb.) Tamamsch. ex Grub. (син. *H. tataricus*), *H. altaicus subsp. altaicus*, *H. altaicus subsp. appressifolius* Koroljuk.

Согласно информационной базе The Plant List [11] наименование *H. hispidus* является синонимом к виду *Kalimeris hispida* (Thunb.) Nees (род *Kalimeris*, *Compositae*).

Учитывая практическое значение видов *H. tataricus* и *H. altaicus* далее нами уделено внимание именно этим видам.

H. tataricus Tamamsch. – официально принятое название вида, синонимы отсутствуют [11]. Однако, есть сведения о синонимичности *H. biennis* (Ledeb.) Tamamsch. ex Grub. (*H. tataricus* (Lindl.) Tamamsch.) – или г. двулетний [42]. *H. tataricus* распространен на территории Западной и Восточной Сибири, а также на Дальнем Востоке. Предпочитает долины, остепненные и суходольные луга, опушки, степи. Вид является двулетником [11, 13].

В траве данного вида обнаружены тритерпеноиды, такие как полигалаковая кислота, 28-О-[α -L-рамнопиранозил-(1 \rightarrow 2)]-[β -D-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)]- β -D-глюкопиранозид арьюноловой кислоты (гетеропаппусапонин I), а также флавоноиды – рутин, никотифлорин, 3-О-рутозид изорамнетины. Экспериментально установлена антифунгальная активность полигалаковой кислоты, выделенной из наземных органов *H. tataricus* [42].

H. altaicus многолетнее травянистое растение. Обитает в южной части Среднесибирского плоскогорья, в горах Восточного Саяна, в Саяно-Байкальском и Баргузинском районах, Витимском нагорье, описан в южной части Бурятии и Даурии. *H. altaicus* является светолюбивым ксеромезофитом, предпочитая берега рек, озер, в том числе соленых, а также сухие и остепненные луга и степи [13, 18 19]. *H. altaicus* (Willd.) Novopokr. (син. *Aster altaicus* Willd. 1809, Enum. Hort. Berol. 2: 880. – *Aster altaicus* Willd. var *canescens* (Nees) Serg. – *Heteropappus canescens*

(Nees) Novopokr. – *Heteropappus distortus* (Turcz. ex Ave-Lall.) Tamamsch. [18, 19].

Информационная база The Plant List [11] указывает на наличие 18 синонимов к этому виду: *Aster altaicus* var. *medius* Krylov, *A. altaicus* var. *uchiyamae* (Nakai) Kitam., *A. angustifolius* Lindl., *A. distortus* Turcz. ex Ave-Lall., *A. gebleri* Besser ex DC., *A. lithospermifolius* Desf., *A. medius* (Krylov) Serg., *A. millefolius* Vaniot, *A. pumilus* Fisch., *A. pyrrhopappus* Boiss., *A. spartioides* C.B. Clarke, *Brachyactis altaica* (DC.) Kitam., *Conyza altaica* DC., *Galatella altaica* Tzvelev., *G. juncea* Lindl. ex DC., *Heteropappus altaicus* subsp. *altaicus*, *H. altaicus* var. *altaicus*, *H. distortus* (Turcz. ex Ave-Lall.) Tamamsch.

Вид описан в списках «Flora of China» [46] как *Aster altaicus* var. *altaicus*. В качестве синонимичных отмечены названия *Aster gmelinii* Tausch; *Heteropappus altaicus* (Willdenow) Novopokrovsky; *Kalimeris altaica* (Willdenow) Nees; *K. altaica* var. *subincana* Ave-Lallemant. Встречается в некоторых провинциях Китая, кроме того, в штате Кашмир, Казахстане, Монголии. На описанных территориях вид встречается в степи, на лугах, солончаках, каменистых склонах холмов, а также по обочинам дорог и по берегам рек.

H. altaicus по данным разных авторов содержит сапонины, терпеноиды, алкалоиды, кумарины, флавоноиды и дубильные вещества, эфирное масло. Иностранные источники сообщают, что эфирное масло *H. altaicus* содержит не менее 54 компонентов. Основными являются монотерпены и тритерпены. Большую часть из них занимают гермакрин Д, кариофиллен, β-пинен, β-феландрен и лимонен (20%, 7%, 5%, 4 и 3%, соответственно, в общей сумме идентифицированных компонентов) [47]. Подробно изучался состав моно и сесквитерпеноидов надземной части *H. altaicus*. В результате установлено наличие фарнезола, (-)-спатуленола, 1β 10α-эпоксид кариофиллена, 4α7β-дигидрокси-10βН-гвай-5-ен-1β8β-эндоксид, 1β-метоксиариол-9-он; α-туйен, α-пинен, β-пинен, камфен, сабинен, мирцен, α-феландрен, Δ3-карен, α-терпинен, λ-терпинен, (Z)-β-оцимен, терпинолен, п-цимен, лимонен, β-феландрен, 1,8-цинеол, цис-хризантенилацетат, борнилацетат, α-терпинацетат, транс-сабиналацетат, δ-элемен, α-копаен, β-пачулен, β-бурбонен, β-элемен, β-кариофеллен, β-копаен, α-гумулен, гермакрин D, β-селинен, цингиберен, бициклогермакрин, транс-β-гвайен, (E,E)-α-фарнезен, β-фарнезен, δ-кадинен, спатуленол, оксид кариофеллена, гвайол [15, 16, 48].

Установлено присутствие дитерпеноидов и тритерпеноидов в надземных органах *H. altaicus*. Первая группа включает транс-фитол, (-)-хардвиккиевую и хаутриваевую кислоты, их производные – 12α-(2-метилбутирилокси) хардвиккиевую, лактон 12α-гидрокси-хаутриваевую-19, лактон 7α12α-дигидрокси-хаутриваевую-19 кислоты, 12α-(2-метилбутирилокси) стриктовая кислота; а также (5R, 6S, 8aS)-5-[2-3-фурил] этил-5,6,8a-триметил-4a,5,6,7,8,8a-гексагидро-1-нафталинкарбоновая кислота] (или гетералатиковая кислота) в соцветиях [16].

Вторая группа (тритерпеноиды) – фриделин, эпифриделанол, 2β, 3β, 16α, 23-тетрагидроксиолеан-12-ен-28-овая кислота или полигалаковая кислота [16, 49].

Мазур Л.В. проведена количественная оценка некоторых групп БАС надземных органов *H. altaicus*, произрастающего на территории Западного Забайкалья. Установлено содержание в траве – алкалоидов 0,14%, флавоноидов, в пересчете на кверцетин 0,76%, дубильных веществ 4,43% и аскорбиновой кислоты 0,88%, в соцветиях – алкалоидов 0,05%, флавоноидов, в пересчете на кверцетин 1,70%, дубильных веществ 5,92%, аскорбиновой кислоты 1,86%, в подземных органах – флавоноидов 0,08%, дубильных веществ 0,35%. Кроме того, при изучении элементного состава выявлены следующие микроэлементы: Mn, Zn, Cu, Ni, Co, Cr [49].

Данные по исследованию гетеропапруса алтайского в клинической медицине в доступной литературе недостаточны, затрагивают период 1997 года. Были представлены результаты изучения иммуномодулирующего и противовоспалительного эффектов тритерпеновых сапонинов золотарника обыкновенного, видов гетеропапруса алтайского и г. двулетнего [50]. При этом в народной медицине соцветия *H. altaicus* назначают при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Надземная часть растения оказывает антибактериальное и протистоцидное действие. В тибетской и монгольской медицине траву этого растения используют как жаропонижающее, противовоспалительное средство, при респираторных инфекциях в качестве отхаркивающего и противокашлевого, а также при болезнях желудка (в том числе при язвенной болезни [51]). Надземные органы входят в состав сборов, назначаемых при лечении кори и оспы. В китайской медицине, наряду с другими растениями, извлечения из *H. altaicus* употребляют для лечения половой слабости у мужчин, при кровохарканье и хронических бронхитах [21].

Solidago dahurica Kitag.

Род *Solidago* L. – золотарник, по данным «Флоры Центральной Сибири» и ЭБ СО РАН [18, 19] на территории Восточной Сибири имеет в своем арсенале одного представителя – *S. dahurica* L. (син. *Solidago dahurica* Kitag. *S. gebleri* Juz. – *S. virgaurea* var. *alpestris* Krylov. non. DC.). В свою очередь, во «Флоре Сибири» [13] указано, что на территории Восточной Сибири произрастает два вида – *S. dahurica* и *S. spireifolia* Fisch. ex Herder. Последний распространен только в Арктическом флористическом районе (САХА Якутия). Согласно информационной базе ЭБ СО РАН [19] в Восточной Сибири встречается *S. gebleri*, характерный для флоры Алтая. Вместе с тем, на территории Восточной Сибири встречаются *S. canadensis* L., который является официальным видом и *S. virgaurea* L. (или золотая розга). Эти виды относятся к одичавшим и натурализовавшимся, и, практически, типичным видам флоры Восточной Сибири. Это связано с

широким использованием их как культурных видов для озеленения городских улиц и садовых участков, а также с достаточной популярностью растений в практике народной медицины [19, 21].

Согласно списку «The Plant List» *S. dahurica* является синонимом *S. virgaurea subsp. dahurica* (Kitag.) Kitag., к которому, в свою очередь, определены синонимы *S. gebleri* Juz. и *S. gebleri var. gebleri* [11]. *S. dahurica* – обычно равнинное растение, представители высокие, до 1 м, с крупной метелкой. Листья преимущественно волосистые по жилкам. Растения с высокогорий Саян и Станового нагорья отличаются меньшим габитусом от 15 до 50 см и имеют простое кистевидное соцветие, голые или почти голые листья. Иногда этот вид выделяют в качестве особого вида – *S. gebleri* Juz. Однако указанные отличия непостоянны и не являются диагностическими признаками [13, 18, 19].

Вид *S. dahurica* имеет широкое распространение на территории Восточной Сибири. По всему Среднесибирскому плоскогорью, в районах Саян по Байкальскому нагорью. Не образует больших зарослей, но имеет массивный габитус, хороший сырьевой запас [52]. *S. dahurica* предпочитает заселяться в зарослях кустарников, в лесу, на полянах, по долинам рек, на каменистых и щебнистых склонах, прирусловых галечниках и редколесьях.

В качестве сырья у *S. dahurica* заготавливают надземные органы во время цветения. Обнаружены флавоноиды – астрагалин, кверцитрин, рутин, кемпферол, изорамнетин, изокверцитрин. Кроме того, установлено присутствие тритерпеновых сапонинов, горечей, дубильных веществ, смол, органических кислот, эфирного масла, каротина, аскорбиновой и никотиновой кислот, инулина, а также алкалоидов [21].

При гидролизе выделенных тритерпеновых сапонинов выявлено восемь агликонов, производных виргуреагенина, обозначенных литерами А, В, С, D, I, F, G, H. Агликон виргуреагенин А был идентифицирован как олеаноловая кислота, а виргуреагенин D – как кислота полигалловая. Углеводный остаток состоит из глюкозы, рамнозы и ксилозы. Установлено наличие гликозидов полифенольного характера, в частности, производных кверцетина – изокверцитрин, подтверждено наличие сапонинов, дубильных веществ, катехинов, флавонов. В цветочных корзинках *S. dahurica* содержится около 0,5% эфирного масла, в листьях – около 0,7%, установлено наличие сапонинов, катехинов, танинов и флавонов [53].

Кроме того, выявлено присутствие органических кислот (в частности, хинной), дитерпеноидов, полиацетиленовых соединений, фенолкарбоновых кислот и их производных (кофейной, хлорогеновой, гидроксикоричной), кумаринов (эскулетина, эскулина) и фитостероидов [53].

Химический состав надземных органов обеспечивает использование *S. dahurica* в качестве отхаркивающего, диуретического и гипозотемического средства, для лечения хронических нефритов и

почечной недостаточности. В разных странах виды *Solidago* применяют аналогично. В частности, траву *S. dahurica*, *S. virgaurea* и *S. canadensis* издавна назначали при заболеваниях почек и мочевого пузыря, для растворения камней в почках и мочевом пузыре, при большом содержании белка в моче, как мочегонное при водянке, а также в качестве эффективных средств при ревматизме, подагре, бронхиальной астме, туберкулезе легких, желчнокаменной болезни и других заболеваниях. Отмечено успешное применение этих видов наружно – для полосканий при ангине, разрыхлении десен, для укрепления слабых зубов, для примочек при гнойных ранах и переломах костей [24].

Из надземных органов *S. dahurica* изготавливают смеси – мази, втирания на основе сливок, свиного жира или сливочного масла. Такие средства рекомендуют при туберкулезе кожи, дерматитах, ожогах, ревматизме, при белях. Народы Коми и Сибири применяют вытяжки из *S. dahurica* внутрь при язвенном цистите, гепатите, при аденоме простаты, импотенции, частых поллюциях и хроническом простатите (в смеси с другими растениями), а также наружно для полосканий и обмываний при остром ларингите, экземе [54].

В народной медицине Кавказа спиртовая настойка из подземных частей растения используется как ранозаживляющее средство [21, 54]. Травя *S. virgaurea* включена в Британскую травяную фармакопею как потогонное и антисептическое средство [55]. В гомеопатии [56] применяют эссенцию из свежих соцветий при хронических воспалительных заболеваниях почек, сопровождающихся кожными высыпаниями, припуханием желез, отеками, катарам и ревматическими болями.

Leontopodium conglobatum (Turcz.) Hand. -Mazz.

Род *Leontopodium* R. Br. ex Cass. восточносибирской флоры представлен 4 видами – *Leontopodium comesrte* (Ledeb) Hand., *Leontopodium conglobatum* (Turcz.) Hand. -Mazz, *Leontopodium leontopodioides* (Wild.) Beauv., *Leontopodium ochroleucum* Beauv. [23, 24]. Флористическая сводка «Флора Сибири» [13] описывает виды *Leontopodium comesrte* (Ledeb) Hand., *Leontopodium conglobatum* (Turcz.) Hand.-Mazz и *Leontopodium ochroleucum* Beauv. как подвиды *Leontopodium conglobatum*.

База данных Global Compositae Checklist, которая представляет собой интегрированную базу данных номенклатурной и таксономической информации семейства *Asteraceae*, включенная в Catalogue of Life: 2015 Annual Checklist [57] и информационная база «The Plant List» [11] указывают, что названия *Leontopodium ochroleucum var. conglobatum* (Turcz.) Grubov и *Leontopodium sibiricum var. conglobatum* Turcz. являются синонимами к названию *Leontopodium conglobatum* (Turcz.) Hand.-Mazz. Сопоставительный анализ показателей представлен в таблице:

Таблица – Сравнительный анализ названий, морфологических признаков, распространения вида и внутривидовых таксонов *Leontopodium conglobatum* Восточной Сибири

Источники (база данных)	Название вида	Показатели		
		Распространение	Морфологические признаки	Местообитание
Флора Центральной Сибири, т. 2	<i>Leontopodium conglobatum</i> (Turcz.) Hand.-Mazz.	Среднесибирское плоскогорье на востоке Иркутской области (в районе бассейна реки Лены), в Саяно-Байкальском районе на южном побережье Байкала, река Иркут, в восточной и западной части Станового нагорья, включая юг Северо-Байкальского нагорья, в степных районах Республики Бурятия в бассейне реки Селенги, в Селенгинском и Джидинском районах	– стебли обычно одиночные, в числе нескольких и тогда в небольших дерновинках, листья на стебле многочисленные (до 15);	По остепенным сучковидным и долинным лугам, опушкам, сухим лесам, в каменисто-щебнистых степях
Флора Сибири, т. 13	<i>Leontopodium ochroleucum</i> subsp. <i>conglobatum</i> (Turcz.) V. Khan. stat. et comb. nov.	В Иркутской области – Ангаро-Саянский флористический район; В Республике Бурятия – Северо-Бурятский и Южно-Бурятский флористические районы	– прицветные листья яйцевидно-ланцетные, ланцетные или продолговатые в верхней половине с завернутыми краями и резко суженные, в 2–3 раза длиннее соцветия, соцветие, чаще разветвленное в виде щитка	
Электронная библиотека Сибирского отделения Российской академии наук – синоним	<i>Leontopodium ochroleucum</i> var. <i>conglobatum</i> (Turcz.) Grub. <i>Leontopodium sibiricum</i> var. <i>conglobatum</i> Turcz. 1847 in Bull. Soc. Nat. Moscou, 20,3. <i>Leontopodium ochroleucum</i> Beauverd <i>conglobatum</i> (Turcz.) V. Khan.	Западная Сибирь: Алтай. Средняя Сибирь: Красноярский край, Республика Хакасия, Республика Тыва. Восточная Сибирь: Иркутская, Читинская области, Бурятия, Республика Саха (Якутия)	из нескольких «звезд», реже одиночные	
The Plant List Global Compositae checklist – Внутривидовой таксон, синоним	<i>Leontopodium ochroleucum</i> var. <i>conglobatum</i> (Turcz.) Grubov. <i>Leontopodium sibiricum</i> var. <i>conglobatum</i> Turcz.	30 – Siberia, Irkutsk (IRK), Irkutsk (IRK-OO); ... 31 – Russian Far East, Amur (AMU), Amur (AMU-OO); ... 31 – Russian Far East, Khabarovsk (KHA), Khabarovsk (KHA-OO); 30 – Siberia, Yakutskiy (YAK), Yakutskiy (YAK-OO); 3 – Asia-Temperate, 30 – Siberia, Chita (CTA), Chita (CTA-OO);		

Представленные данные в таблице позволяют сделать вывод, что под принятым и синонимичными названиями *Leontopodium conglobatum* описан равнозначный вид. При этом *Leontopodium conglobatum* имеет четко-выраженные морфологические признаки, достаточно широкий ареал на территории Восточной Сибири и доступные места обитания.

В доступных литературных источниках отсутствуют сведения о клинических исследованиях данного вида. Вместе с тем, *Leontopodium conglobatum* (Turcz.) Hand.-Mazz. входит в арсенал лекарственных растений тибетской медицины. С лечебной целью используют всю надземную часть растения в качестве ранозаживляющего, отхаркивающего, болеутоляющего и седативного средства, назначают при желчнокаменной болезни, а также наружно для прижигания при иглоукалывании [22]. Изучен уровень биологической активности по степени влияния настоя 1:20 из *Leontopodium conglobatum* на реакцию пениобразования в суспензии *Saccharomyces cerevisiae* [58]. Сведений по химическому составу не обнаружено.

Род *Geranium*

Род *Geranium* L. (*Geraniaceae*) включает более 300 видов, представленных травами и полукустарниками. Представители рода *Geranium* произрастают по всему земному шару и встречаются в различных климатических зонах. Могут произрастать в горах и на скалах. Более 20 видов *Geranium* культивируются и являются материалом для разведения высокодекоративных сортов. Представители рода *Geranium* образуют прикорневые розетки листьев на длинных черешках. При этом листовая пластинка пальчато-рассеченная на доли различной формы – от достаточно широких до тонких, почти нитевидных. Цветки у представителей рода *Geranium* актиноморфные, в форме блюдца, чаще крупные и красивые, состоят из пяти почти круглых лепестков. Лепестки могут сростаться, образуя плоскую форму, либо форму чашечки. При этом лепестки либо загнуты к венчику, или, наоборот, загнуты к черешку. Окраска цветков гераней белая, пурпурная, синяя, фиолетовая, сиреневая различных оттенков. Плод – коробочка специфической формы с остающимися лепестками чашечки. По форме плод напоминает клюв журавля, отсюда происходит название рода и семейства [60].

Представителей рода *Geranium* флоры северо-запада Европейской России изучала Разаренова К.Н. на базе «Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии». Объектами исследования служили *Geranium pratense* L., *G. sylvaticum* L., *G. palustre* L., *G. sanguineum* L., *G. sibiricum* L., *G. robertianum* L., *G. pusillum* L. и культивируемый вид *G. lividum* [59].

Во флористических списках и определителях описано разное количество представителей рода *Geranium*, населяющих Прибайкалье. В частности, во «Флоре Сибири» [61] описано 20 видов, во «Флоре Центральной Сибири» [18], в Программе ЭБ СО РАН [19] имеются сведения о 10 видах, фотоопределитель «Растения западного побережья озера Байкала» и ревизионная сводка «Конспект флоры Иркутской области (сосудистые растения)» [62] содержат описание 4 видов.

Имеются сведения о применении в народной медицине различных видов гераней в качестве средств для лечения бессонницы, эпилепсии, лихорадки, ревматизма, диареи, как кровоостанавливающее при гинекологических заболеваниях. В тибетской медицине эти виды назначают при лечении глазных болезней, в том числе катаракты [21, 60].

Среди прибайкальских представителей рода *Geranium* определены виды наиболее распространенные: *Geranium eriostemon* Fischer., *G. pratense* L., *G. wlassowianum* Fischer.

Geranium eriostemon Fischer.

Согласно данным информационной базы [11] название *G. eriostemon* находится в статусе *Illegitimate* т.е. использование этого названия не согласовано с правилами Международного кодекса ботанической номенклатуры. Вместе с тем, название *G. eriostemon* является синонимом вида *G. platyanthum* Duthie. Во флористических сводках «Флора Сибири» [61], «Флора Центральной Сибири» [18] и ЭБ СО РАН [19] вид *G. eriostemon* описан как самостоятельный.

Места произрастания – светлые леса, заросли кустарников, опушки. Основные районы распространения – западные и южные районы Иркутской области, Среднесибирское плоскогорье, юго-западная окраина Иркутской области (Восточный Саян), а также южное побережье озера Байкал [18, 19, 61, 62].

Проводились фитотехнологические исследования по получению экстракта, содержащего максимальное количество флавоноидов травы *G. eriostemon*. На основе сравнения результатов, получаемых на математически прогнозируемой модели и экспериментальных данных установлено, что оптимальными условиями являются соотношение «сырье : экстрагент» – 1:40, экстрагент – 60% этанол и длительность экстракции – 35 мин [63]. Определено содержание танидов с помощью ВЭЖХ в некоторых видах гераней, произрастающих в Китае, сумма этих

соединений в траве *G. eriostemon* составила 0,88% [64].

Изучался компонентный состав *G. eriostemon*. Du S. и соавторы установили наличие производных инозита – сциллита β-ситостерина. Отмечено присутствие полифенолов – фенолкарбоновых кислот и флавоноидов. В частности, первая группа представлена протокатеховой кислотой и производными галловой кислоты: 1,6-ди-*O*-галлоил-α-*L*-глюкоза, 1,2,3,6-тетра-*O*-галлоил-β-*D*-глюкоза, корилагин. Вторая группа это флавоноиды, которые относятся к флавонолам – кверцетин, мирицетин, 7-*O*-α-*L*-арабинофуранозид и 3-*O*-α-*L*-арабинофуранозид кемпферола. В траве обнаружена шикимовая кислота [64].

Фитохимическое исследование метанольного экстракта надземной части *G. eriostemon* показало наличие олеаноловой кислоты, трех лигнанов – (-)-*kobusin*, (-)-*eudesmin*, (+)-(+)-*magnolol*, сиреневого кислоты и четырех флавоноидов – кверцетина, югландина, юггалина и гиперина. При этом (+)-(+)-*магнолин*, сиреневая кислота и кверцетин проявили умеренную цитотоксическую активность в отношении 4 человеческих линий клеток рака *in vitro* [64].

Изучена динамика накопления дубильных веществ в надземных и подземных органах *G. eriostemon*, произрастающей на территории Бурятии. Максимально богаты танидами подземные органы этого вида, их содержание достигало 4,14% [65].

Экспериментально установлен достаточно высокий уровень антимикробной активности суммы танидов выделенных из подземных органов *G. eriostemon*. Определение бактерицидной активности проводили визуально в чашках Петри по величине зоны задержки роста наиболее распространенного представителя граммположительных бактерий – *Staphylococcus aureus*⁹ [66].

G. pratense L.

G. pratense имеет общепринятое название в Мировом списке растительных семейств (World Checklist of Selected Plant Families – WCSP) [12] и представлен 24 синонимами различного статуса: *G. acknerianum* Schur., *G. alpinum* Kit. ex Kanitz., *G. batrachoides* Bubani., *G. caeruleum* Gilib. [Invalid], *G. coelestinum* Schur., *G. kemulariae* Kharadze, *G. mariae* Sennen, *G. napellifolium* Schur., *G. neapolitanum* Nyman., *G. pratense* var. *affine* (Ledeb.) C.C. Huang & L.R. Xu, *G. pratense* var. *albidum* Regel, *G. pratense* f. *albiflorum* Q.Zhu & J.Wang, *G. pratense* f. *leucanthemum* B.Boivin., *G. pratense* var. *litwinowii* Woronow, *G. pratense* var. *pallidum* Regel, *G. pratense* var. *parviflorum* Regel, *G. pratense* f. *pratense*, *G. pratense* var. *pratense*, *G. pratense* var. *pubescens* Regel, *G. pratense* var. *schmidii* Y.J.Nasir, *G. pratense* subsp. *sergievskajae* Peschkova, *G. pratense* subsp. *stewartianum* Y.J. Nasir, *G. pratense* var. *tenuisectum* Regel, *G. valde-pilosum* Schur ex Nyman.

⁹ ГОСТ 10444.2-94. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества *Staphylococcus aureus*.

В Иркутской области вид предпочитает следующие места обитания – луга, опушки, осветленные леса. Встречается в Саянах, на северном побережье озера Байкал, на территории Байкало-Ленского заповедника [18, 19, 62].

В надземной части *G. pratense* обнаружены фенолкарбоновые кислоты и их производные: гераниин и изогераниин, в подземной части – кофейная, галловая, дегидрогалловая, эллаговая, хебулаговая кислоты, метилгаллат, 6-галлоилглюкоза [64, 67, 68].

Среди соединений флавоноидной структуры установлено наличие рутина, кверцетина, апигенина [67]. Из других полифенольных соединений в надземных органах *G. pratense* идентифицированы – мирицетина 3-О-(2"-О-галлоил)-β-D-глюкопиранозид, 5 производных кверцетина: 3-О-β-D-глюкопиранозид, 3-О-β-D-галактопиранозид, 3-О-(2"-О-галлоил)-β-D-глюкопиранозид, 3-О-(2"-О-галлоил)-β-D-галактопиранозид, 3-О-α-D-арабинопиранозид, а также 3-О-β-D-глюкопиранозид кемпферола [67–68], а также (-)-6-хлорэпигаллокатехин, метилгаллат и триптофан, в подземных органах – (+)-катехин, (-)-эпикатехин. Выделенные соединения оказались эффективными против нарушений эндотелий-зависимой релаксации в изолированном отрезке аорты крысы [70].

Надземные органы *G. pratense*, произрастающей в западной части России, исследовали в отношении аминокислотного состава. В частности, в надземной части *G. pratense*, заготовленной в республике Башкортостан, было идентифицировано 20 аминокислот и определено их содержание [67, 68, 71].

Окраска цветков гераниевых обеспечивается антоцианом – дигликозидом мальвидина, в семенах присутствует лейкоантоцианидин [68].

Прибайкальский вид *G. pratense* является одним из первых растительных объектов, подвергнутых изучению на базе кафедры фармакологии Иркутского государственного медицинского института в 60-х годах прошлого столетия. Исследования были связаны с изучением влияния экстракта из этого растения на центральную нервную систему и его токсичности [72]. Вместе с тем, в экспериментах на лабораторных животных изучено ранозаживляющее действие, которое проявляет сумма полисахаридов этого растения. Изучалось влияние данной группы соединений на процесс регенерации депилированной кожи животных, предварительно обработанной 20% раствором калия гидроксида. Установлено заметное уменьшение площади раневой поверхности, ускорение процессов регенерации и пролиферации [73]. *G. pratense* – вид, произрастающий на территории Монголии, обладает высокой антиоксидантной активностью [74, 75]. Метанольные экстракты тормозили действие ферментативной активности α-амилазы в изолированной плазме более, чем на 40% [74]. Выяснена перспективность применения

суммы полифенольных соединений данного вида против условно-патогенных микроорганизмов – штаммов *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* [76].

Проводились агробиологические исследования *G. pratense*. Была изучена антимикробная активность высушенного порошка из корней этого растения после внесения в почву с культурой картофеля. Данная процедура уменьшала дальнейшую заболеваемость посевного материала. Установлено, что антимикробную активность проявляет фракция с геранином при его содержании до 15% сухой массы корня (ВЭЖХ-метод). Антимикробная активность данной фракции соответствовала 1,25% от действия стрептомицина (метод бумажного диска). Результаты исследования свидетельствуют о перспективности использования *G. pratense* в качестве органической добавки или сопутствующей культуры для контроля микробной обсемененности картофеля [77].

Geranium wlassowianum Fischer

G. wlassowianum Fischer., согласно данным информационной базы данных, не имеет синонимов [11]. В Иркутской области *G. wlassowianum* встречается на востоке и юге региона, при этом чаще в Тулунском районе, также характерен для южного побережья озера Байкал, входит в список растительности Байкало-Ленского заповедника, при этом предпочитает места обитания, аналогичные перечисленным выше видам гераней [18, 19, 62].

В течение всего вегетационного периода отмечено стабильно высокое содержание танидов в подземной и надземной частях вида *G. wlassowianum*, произрастающего на территории Бурятии [69]. Определён уровень бактерицидной активности дубильных веществ вегетативных органов *G. wlassowianum* в отношении стафилококка золотистого [66].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в обзоре данные показывают, что виды подсемейства *Asteroidae* и рода *Geranium* являются источниками биологически активных соединений различных групп – полифенолов, терпеноидов, компонентов эфирных масел, насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, микроэлементов, витаминов и др. В комплексе БАС преобладают полифенольные соединения – флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, таниды, присутствие которых отмечено во всех видах. В народной медицине описываемые растительные объекты назначаются для лечения различных заболеваний. Экспериментально подтверждены влияние на центральную нервную систему, а также следующие виды фармакологического действия – гемостатическое, потогонное, антисептическое, антиоксидантное, цитостатическое, противогриппозное, противогерпетическое, противопрозоидное, антимикробное и противовоспалительное.

Ареалы представленных видов охватывают прак-

тически все материки земного шара. Это говорит о широких адаптационных возможностях данных описанных растительных объектов. Многие из перечисленных видов являются основой для введения в культуру сортов с особыми декоративными, хозяйственно-биологическими признаками, в том числе с целенаправленно улучшенной фармацевтической ценностью. В связи с этим, в отношении прибайкаль-

ских видов *Heteropappus altaicus*, *Solidago dahurica*, *Leucanthemum vulgare*, *Tripleurospermum inodorum*, *Antennaria dioica*, *Leontopodium conglobatum* и *Geranium eriostemon*, *G. pratense*, *G. wlassowianum* целесообразно глубокое комплексное фитохимическое и фармакологическое исследование с целью создания лекарственных средств для лечения наиболее распространенных заболеваний.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Автор выражает благодарность Семеновой Ирине Михайловне – старшему преподавателю Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации за оказанную лингвистическую помощь.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данный обзор не имел какой-либо поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРА

Е.Г. Привалова – планирование, сбор литературных данных, написание и редактирование обзора.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Куркин В.А. Фармакогнозия как методологическая основа доказательной фитотерапии // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17, № 5–2. – С. 592–596.
2. Николаев С.М., Асеева Т.А., Мондодоев А.Г., Шантанова Л.Н., Разуваева Я.Г., Хобракова В.Б., Чукаев С.А. Многовековой опыт развития бурятской ветви традиционной медицины России // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2, №3. – С. 115. DOI: 10.12737/article_59f036042cbb94.29099154.
3. Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Ганапольский В.П., Ятманов А.Н., Шабанов П.Д. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, №2. – С. 56–63. DOI: 10.17816/RCF15256-63.
4. Морозов С.В., Ткачева Н.И., Ткачев А.В. Проблемы комплексного химического профилирования лекарственных растений // Химия растительного сырья. – 2018. – №4. – С. 5–28. DOI: 10.14258/JCPRM.2018044003.
5. Теплова В.В., Исакова Е.П., Кляйн О.И., Дергачева Д.И., Гесслер Н.Н., Дерябина Ю. И. Природные полифенолы: биологическая активность, фармакологический потенциал, пути метаболической инженерии (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2018. – Т. 54, №3. – С. 215–235. DOI: 10.7868/s0555109918030017.
6. Perez-Vizcaino F, Fraga C.G. Research trends in flavonoids and health // Arch. Biochem. Biophys. – 2018. – Vol. 646. – P. 107–112. DOI: 10.1016/j.abb.2018.03.022.
7. Rodeiro I., Donato M.T., Lahoz A., Garrido G., Delgado R., Gómez-Lechón M.J. Interactions of polyphenols with the P450 system: possible implications on human therapeutics // Mini Rev Med Chem. – 2008. – Vol. 8, No.2. – P. 97–106. DOI: 10.2174/138955708783498131.
8. Цыдендамбаев П.Б., Хышиктуев Б.С., Николаев С.М. Биологические эффекты флавоноидов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2006. – № 6. – С. 22–23.
9. Тутельян В.А., Лашнева Н.В. Биологически активные вещества растительного происхождения. Флавонолы и флавоны: распространенность, пищевые источники, потребление // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82, № 1. – С. 4–22.
10. Di Piero F. Roles of chemical complexity and evolutionary theory in some hepatic and intestinal enzymatic systems in chemical reproducibility and clinical efficiency of herbal derivatives // The Scientific World Journal – 2014. – Vol. 2014. – Art. No. 732045. DOI 10.1155/2014/732045
11. The Plant List. 2013. Version 1.1. Published on the Internet. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.theplantlist>.
12. Bremer K., Anderberg A.A. *Asteraceae: Cladistics and Classification*. – Portland (Oregon), 1994 – 752 p.
13. Красноборов И.М., Ломоносова М.Н., Тупицына Н.Н. и др. Флора Сибири. Том 13: Asteraceae (Compositae). – Новосибирск: Наука. Сиб. предприятие РАН, 1997. – 472 с.
14. Dillon M.O., Funk V.A., Robinson H, Raymund Ch. Systematics, Evolution, and Biogeography of *Compositae* // En International Association for Plant Taxonomy (IAPT). Vienna. – 2009. – P. 441–461.
15. Han Y., Gao X.G., Huang H. A new sesquiterpene with a novel 1 β ,8 β -oxygen bridge from *Heteropappus altaicus* Willd. (Novopokr.) // Molecules. – 2011. – Vol. 16, No.1. – P. 518–522. DOI: 10.3390/molecules16010518.
16. Huang H., Gao X.G., Liu J., Li S., Han Y.F., Zhou B.C., Xia M. A new caryolane sesquiterpene from *Heteropappus altaicus* Willd. (Novopokr.) // Nat. Prod. Res. – 2012. – P. 1–6. DOI: 10.1080/14786419.2012.695366.
17. Fursenco C., Calalb T., Uncu L., Dinu M., Ancuceanu R. *Solidago virgaurea* L.: A Review of Its Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacological Activities // Biomolecules. – 2020. – Vol. 10, No.12. – Art. No.1619. DOI: 10.3390/biom10121619.
18. Флора Центральной Сибири. В 2 т. / под ред. Л.И. Малышева, Г.А. Пешковой. – Новосибирск, 1979. – 1048 с.
19. Электронная библиотека Сибирского отделения РАН. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.sbras.nsc.ru/win/elbib/atlas/list.dhtml?flora#menu>

20. Babotă M, Mocan A, Vlase L, Crișan O, Ielciu I, Gheldiu AM, Vodnar DC, Crișan G, Păltinean R. Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. *Flowers // Molecules*. – 2018. – Vol. 23(2). – P. 409. DOI: 10.3390/molecules23020409.
21. Раделов С.Ю. Все о лекарственных растениях: Атлас-справочник. – СПб, М., 2019. – С. 72.
22. Mericli A.H. Constituents of *Antennaria dioica* // *J. of Natur. Prod.* – 1983. – Vol. 46, No.6. – P. 941. DOI: 10.1021/np50030a026.
23. Slobodianiuk L, Budniak, L., Marchyshyn S., Basaraba R. Determination of amino acids and sugars content in *Antennaria dioica* Gaertn. // *International Journal of Applied Pharmaceutics*. – 2019. – Vol. 11, No.5. – P. 39–43. DOI: 10.22159/ijap.2019v11i5.33909.
24. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейства *Asteraceae* (*Compositae*) Ч. 1. Роды *Achillea* – *Doronicum*. – СПб. – М., 2012. – 317 с.
25. Marchyshyn S., Basaraba R., Berdey T. Investigation of phenolic compounds of *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. *Herb // The Pharma Innovation Journal*. – 2017. – Vol. 6, No.8. – P. 9–11.
26. Kieliszek M. Selenium – fascinating microelement, properties and sources in food // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, No.7. – Art. No.1298. DOI: 10.3390/molecules24071298.
27. Калинин Е.П., Бояринцев Д.И., Буслаева Н.Н., Ромаданова М.А. Идентификация действующих веществ растительных экстрактов, обладающих антикоагулянтной активностью // *Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле»*. – 2017. – Т. 27, №3. – С. 350–355.
28. Марчишин С.М., Сіра Л.М., Басараба Р.Ю., Дахім І.С. Морфолого-анатомическое строение травы кошачьих лапок двудомных (*Antennaria dioica* (L.) Gaertner) // *Український біофармацевтичний журнал*. – 2015. – № 6. – С. 45–52.
29. Semeniv D.V., Belik G.V., Kutsenko T.A., Stoletov Y.V., Ulanova V.A. The experience of *Antennaria dioica* application in folk medicine and prospects of this plant use for creation of new phytohemostatics // *Український біофармацевтичний журнал*. – 2020. – № 6 – P. 37–41.
30. Горячкина Е.Г., Бочарова Г.И., Мазунова О.И., Федосеева Г.М. Результаты ботанического, эколого-ценотического и ресурсного изучения трёхрёберника пахучего и нивяника обыкновенного // *Новые технологии в пром. и сельском хоз-ве: матер. 1-й Всерос. заочн. науч.-практ. конф., Бийск – 2012*. – С. 161–164.
31. Clements D.R., Cole D.E., King J., McClay A. The biology of Canadian weeds. 128. *Leucanthemum vulgare* Lam. // *Canadian Journal of Plant Science*. – 2004. – Vol. 84, No.1. – P. 343–363. DOI: 10.4141/P02-112.
32. Ijaz, F., Iqbal, Z., Rahman, I.U., Alam, J., Khan, S.M., Shah, G.M., Afzal, A. Investigation of traditional medicinal floral knowledge of Sarban Hills, Abbottabad, KP, Pakistan // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2016. – Vol. 179. – P. 208–233. DOI.org/10.1016/j.jep.2015.12.050.
33. Cornara L., La Rocca A., Marsili S., Mariotti M.G. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy) // *Journal of Ethnopharmacology*. – 2009. – Vol. 125, No.1. – P. 16–30. DOI: 10.1016/j.jep.2009.06.021.
34. Pieroni A., Maria E.G., Cassandra L.Q. Cross-cultural ethnobiology in the Western Balkans: medical ethnobotany and ethnozoology among Albanians and Serbs in the Pešter Plateau, Sandžak, South-Western Serbia // *Human Ecology*. – 2011. – Vol. 39, No.3. – P. 333–349. DOI: 10.1007/s10745-011-9401-3.
35. Mamedov N., Mehdiyeva N.P., Craker Lyle E. Medicinal plants used in traditional medicine of the Caucasus and North America // *Journal of Medicinally Active Plant*. – 2015. – Vol. 4, No.3. – P. 42–66. DOI: 10.7275/R51834DS.
36. Raal A., Kaur H., Orav A., Arak E., Kailas T., Muurisepp M. Content and composition of essential oils in some *Asteraceae* species [Eeterliku oli sisaldus ja koostis monedes *Asteraceae* sugukonna taimeliikides] // *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*. – 2011. – Vol. 60, No.1. – P. 55–64. DOI: 10.3176/proc.2011.1.06. Estonian.
37. Magharri E., Razavi S.M., Ghorbani E., Nahar L., Sarker S.D. Chemical Composition, Some Allelopathic Aspects, Free-Radical-Scavenging Property and Antifungal Activity of the Volatile Oil of the Flowering Tops of *Leucanthemum vulgare* Lam. // *Records of Natural Products*. – 2015. – Vol. 9, No.4. – P. 538–545. DOI: 10.1111/emr.12296.
38. Sagareishvili T.G., Alaniya M.D. Phenolic compounds from the tubular flowers of *Leucanthemum vulgare* // *Chemistry of Natural Compounds*. – 1991. – Vol. 27, No.4. – Art. No.512. DOI: 10.1007/BF00636588.
39. Sagareishvili T.G. Alkaloids of *Leucanthemum vulgare* // *Chemistry of Natural Compounds*. – 2000. – Vol.36, No.3. – P. 327–337. DOI: 10.1007/BF02238350.
40. Noori A., Zare M.H., Alaie E., Newman L.A. *Leucanthemum vulgare* Lam. crude oil phytoremediation // *Int. J. Phytoremediation*. – 2018. – Vol.20, No.13. – P. 1292–1299. DOI: 10.1080/15226514.2015.1045122.
41. Šibul F., Orčić, D., Berežni S., Anačkov G., Mimica-Dukić N. HPLC–MS/MS profiling of wild-growing scentless *Chamomile* // *Acta Chromatographica*. – 2020. – Vol. 32, No.2. – P. 86–94. DOI: 10.1556/1326.2019.00546.
42. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейства *Asteraceae* (*Compositae*). Ч. 2. Роды *Echinops*–*Youngia*. – СПб., М., 2013. – 312 с.
43. Ториков В.Е., Мельникова О.В., Ториков В.В. Минеральный состав надземной массы сорных растений // *Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии*. – 2015. – №4. – С.10–14.
44. Велиханова З.Р., Марахова А.И., Сорокина А.А. Содержание биологически активных веществ в цветках трёхрёберника продырявленного // *Фармация*. – 2017. – Т. 66, №8. – С. 9–12.
45. Велиханова З.Р., Сорокина А.А. Разработка характеристик подлинности цветков трёхрёберника продырявленного // *Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ*. – Воронеж, 2016. – С. 208.
46. Zi W., Chen Y., Chen Y., Luc B., John C.S. *Tribe Asteraceae* // *Flora of China*. Science Press & St. Louis. – 2011. – Vol. 20–21. – Art.No.588. Chinese
47. Bader G. Tuja D., Wray V., Hiller K. Flavonol glycosides from *Heteropappus altaicus* and *H. biennis* // *Planta medica*. – 1993. – Vol. 59, No.03. – P. 284–285. DOI: 10.1055/s-2006-959675.
48. Tkachev A.V., Korolyuk E.A., Letchamo W. Chemical screening of volatile oil-bearing flora Siberia IX. Variations in chemical composition of the essential oil of *Heteropappus altaicus* Willd. (Novopokr.) growing wild at different altitudes of Altai region, Russia // *J. Essent. Oil Res.* – 2006. – Vol. 18, No.2. – P. 149–151. DOI: 10.1080/10412905.2006.9699048.
49. Мазур Л.В. Исследование химического состава растения *Heteropappus altaicus* (Западное Забайкалье)

- // Съезд и конференция проведены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 18-04-20028 и № 18-04-20023) и ФАНО России. Тр. IV съезда и конф. – Махачкала: АЛЕФ, 2018. – С. 291.
50. Toiu A., Vlase L., Vodnar D.C., Gheldiu A.M., Oniga I. *Solidago graminifolia* L. Salisb. (*Asteraceae*) as a valuable source of bioactive polyphenols: HPLC Profile, In vitro antioxidant and antimicrobial potential // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, No.14. – P. 2666. DOI: 10.3390/molecules24142666.
 51. Горячкина Е.Г., Федосеева Г.М. Изучение биологически активных веществ гетеропаппуса алтайского флоры Восточной Сибири // *Биотехнология. Взгляд в будущее: II Международная научная Интернет-конференция – Казань, 2013.* – С. 69–73.
 52. Горячкина Е.Г., Буинов М.В., Федосеева Г.М. Ресурсные исследования золотарника даурского, произрастающего в Иркутской области // *Международный научно-исследовательский журнал*. – 2013. – Т. 7. №14. – С. 85–86.
 53. Shen X., Zou Z.R. Review on research progress of chemical constituents and bioactivities of *Solidago* // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. – 2016. – Vol. 41, No.23. – P. 4303–4313. DOI: 10.4268/cjcm20162303.
 54. Рыжкова Н.П. Лекарственные растения: От А до Я. – Ростов-на-Дону.: Феникс, 2006. – 428 с.
 55. British Pharmacopoeia. TSO. 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.pharmacopoeia.com/BP2018>.
 56. Nekratova A.N., Kosmodemyanskiy L.V. A study of siberia's medicinal plants used in homeopathy // *Homeopathy*. – 2019. – Vol. 108, No.1. – P. 54–65. DOI: 10.1055/s-0038-1675584.
 57. Roskov Y., Kunze T., Paglinawan L., Orrell T., Nicolson D., Culham A., Bailly N., Kirk P., Bourgoin T., Baillargeon G., Hernandez F. *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 2015. Annual Checklist*. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2015.
 58. Жданова Г.О., Вятчина О.Ф., Быбин В.А., Стом Д.И., Федосеева Г.М. Использование *Saccharomyces cerevisiae* для оценки биологической активности лекарственных препаратов // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. – 2013. – Т. 119, №4. – С. 104–106.
 59. Разарёнова К.Н., Жохова Е.В. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода *Geranium* L. флоры Северо-Запада // *Химия растительного сырья*. – 2011. – Т. 4. – С. 187–192.
 60. Graça V.C., Ferreira I.C.F.R., Santos P.F. Bioactivity of the *Geranium* Genus: A Comprehensive Review // *Curr Pharm Des*. – 2020. – Vol. 26, No.16. – P. 1838–1865. DOI: 10.2174/1381612826666200114110323.
 61. Флора Сибири. Т. 10. *Geraniaceae – Cornaceae* / Сост. М.Г. Пименов, Н.В. Власова, В.В. Зуев и др. – Новосибирск, 1996. – 254 с.
 62. Чепинога В.В. Степанцова Н.В., Гребенюк А.В. Конспект флоры Иркутской области (сосудистые растения). – Иркутск, 2008. – 327 с.
 63. Liu J., Tan H. Optimization of Extraction Technology for Total Flavonoids in *Geranium eriostemon* Fisch. ex DC. by Spherical Symmetric Design // *J. of Anhui Agricultural Sci*. – 2014. – Vol. 17. – P. 20.
 64. Chang S.W., Kim K.H., Lee I.K., Choi S.U., Lee K.R. Phytochemical constituents of *Geranium eriostemon* // *Nat. Prod. Sci*. – 2009. – Vol. 15, No.3. – P. 151–155.
 65. Ильина Л.П., Анцупова Т.П. Накопление дубильных веществ в видах герани в зависимости от фазы вегетации // *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. ВР Филиппова*. – 2016. – №4. – P. 22–26.
 66. Ильина Л.П., Цыдыпов В.Ц., Алексеева С.М. Антимикробная активность дубильных веществ растений семейства *Geraniaceae* Бурятии // *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. ВР Филиппова*. – 2017. – №3. – С. 95–100.
 67. Никитина В.С., Шендель Г.В. Содержание фенольных соединений и аминокислот в надземной части *Geranium pratense* и *G. sibiricum* (*Geraniaceae*) // *Растительные ресурсы*. – 2008. – Т. 4, №2. – С. 74–81.
 68. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 3. Семейства *Fabaceae – Apiaceae*. – СПб.; М., 2010. – 601 с.
 69. Akdemir Z.Ş. Tatlı, İ.İ., Saracoğlu I., İsmailoğlu U.B., Şahin-Erdemli I., Çalış İ. Polyphenolic compounds from *Geranium pratense* and their free radical scavenging activities // *Phytochemistry*. – 2001. – Vol. 56, No.2. – P. 189–193. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)00367-8.
 70. Küpeli E., Tatlı I.I., Akdemir Z.S., Yesilada E. Estimation of antinociceptive and anti-inflammatory activity on *Geranium pratense* subsp. *finitimum* and its phenolic compounds // *Journal of ethnopharmacology*. – 2007. – Vol. 114(2). – P. 234–240. DOI: 10.1016/j.jep.2007.08.005.
 71. Разарёнова К.Н., Захарова А.М., Протасова И.Д., Жохова Е.В. Аминокислотный состав надземной части *Geranium pratense* L., *Geranium sylvaticum* L., *Geranium palustre* L. // *Бутлеровские сообщения*. – 2012. – Т. 31, №8. – С. 73–78.
 72. Левента А.И., Гвоздева П.В., Батурина В.А. Сибирский ученый Сергей Романович Семенов // *Известия лаборатории древних технологий*. – 2014. – № 2(11). – С. 109–113.
 73. Чурилов Г.И., Ивановичева Ю.Н. Исследование моносакхаридного состава водорастворимых полисахаридов герани луговой // *Материалы ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета имени акад. ИП Павлова*. – 2006. – С. 16–18.
 74. Kobayashi K., Baba E., Fushiya S., Takano F., Batkhuu J., Dash T., Sanchir C., Yoshizaki F. Screening of mongolian plants for influence on amylase activity in mouse plasma and gastrointestinal tube // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. – 2003. – Vol. 26, No.7. – P. 1045–1048. DOI: 10.1248/bpb.26.1045.
 75. Хайруллина В.Р., Гарифуллина Г.Г., Герчиков А.А. Антиокислительная активность экстрактов растений сем. *Geraniaceae*, *Rosaceae* на примере модельной реакции окисления изопропилового спирта // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2005. – Vol. 39, No.3. – P. 28–30. DOI: 10.30906/0023-1134-2005-39-3-28-30.
 76. Никитина В.С. Кузьмина Л.Ю., Мелентьев А.И., Шендель Г.В. Антибактериальная активность полифенольных соединений, выделенных из растений семейств *Geraniaceae* и *Rosaceae* // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2007. – Т. 43, №6. – С. 705–712.
 77. Ushiki J. Tahara S., Hayakawa Y., Tadano T. Suppressive effect of *Geranium pratense* L. on common scab of potato and identification of the active compound // *Soil Science and Plant Nutrition*. – 1998. – Vol. 44, No.2. – P. 157–165.

АВТОР

Привалова Елена Геннадьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии, ФГБОУ ВО

«Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9878-1372. E-mail: eleprivalova@yandex.ru

УДК 615.453.4/.6.03:616.13-004.6-08].012.1



РАЗРАБОТКА ПЕРОРАЛЬНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ СУЛЬФАТИРОВАННОГО АРАБИНОГАЛАКТАНА В ВИДЕ КАЛИЕВОЙ СОЛИ

Я.А. Костыро¹, К.В. Алексеев²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Иркутский институт химии имени А.Е. Фаворского» Сибирского отделения Российской академии наук
664033, Россия, г. Иркутск, ул. Фаворского, д. 1

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова»
125315, Россия, г. Москва, ул. Балтийская, д. 8

E-mail: yanakos@irioch.irk.ru

Получена 24.10.2019

После рецензирования 13.08.2021

Принята к печати 21.09.2021

В Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук разработан оригинальный гепариноид – сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли, обладающий антикоагулянтной и гиполипидемической активностями.

Цель. Создание на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли твердых дозированных лекарственных форм для перорального применения в виде таблеток, покрытых пленочной оболочкой, и капсул для профилактики и лечения атеросклеротического повреждения кровеносных сосудов, которые в дальнейшем будут пригодны для клинического исследования.

Материалы и методы. Для получения твердых дозированных лекарственных форм использовались: сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли, полученный в Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН; Ludipress®; AEROSIL® 200 Pharma; кальция стеарат; Aquacoat ECD. Применялось брикетирование порошковых масс с последующим таблетированием и нанесением готового пленочного покрытия Aquacoat ECD и капсулирование в твердые желатиновые капсулы.

Результаты. На основе изученных физико-химических и технологических свойств сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли обоснован состав и технология производства таблеток, покрытых пленочной оболочкой, и капсул. Для разработанных твердых дозированных лекарственных форм определены технологические параметры и показатели качества в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ XIV издания.

Заключение. Разработаны оптимальные составы и технологии получения таблеток, покрытых оболочкой, и капсул на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли для профилактики и лечения атеросклеротического повреждения кровеносных сосудов. Полученные данные положены в основу разработки нормативной документации.

Ключевые слова: сульфатированный арабиногалактан; таблетки, покрытые пленочной оболочкой; капсулы; технология производства

Список сокращений: РФ – Российская Федерация; СО РАН – Сибирское отделение Российской академии наук; ГЛФ – готовые лекарственные формы; ОФС – общая фармакопейная статья; ГПК – готовое пленочное покрытие.

DEVELOPMENT OF PERORAL HYPOLIPIDEMIC FORMULATION BASED ON SULFATED ARABINOGALACTAN IN THE FORM OF POTASSIUM SALT

Ya.A. Kostyro¹, K.V. Alekseev²

¹ Federal State Budget Institution for Science “A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”
1, Favorsky St., Irkutsk, Russia, 664033

² Federal State Budgetary Institution “Research Zakusov Institute of pharmacology”
8, Baltyskaya St., Moscow, Russia, 125315

E-mail: yanakos@irioch.irk.ru

Received 24 Oct 2019

After peer review 13 Aug 2021

Accepted 21 Sep 2021

Для цитирования: Я.А. Костыро, К.В. Алексеев. Разработка пероральной лекарственной формы гиполипидемического действия на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли. *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):441-453. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-441-453

© Я.А. Костыро, К.В. Алексеев, 2021

For citation: Ya.A. Kostyro, K.V. Alekseev. Development of peroral hypolipidemic formulation based on sulfated arabinogalactan in the form of potassium salt. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):441-453. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-441-453

An original heparinoid, sulfated arabinogalactan in the form of potassium salt, possessing anticoagulant and hypolipidemic activities, has been developed at the A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences.

The aim was to develop solid peroral dose forms (capsules and film-coated tablets) for the prevention and treatment of atherosclerotic lesion of blood vessels on the basis of potassium salt of sulfated arabinogalactan which would be suitable for further clinical trials of these forms.

Materials and methods. The following materials were used in the work: sulfated arabinogalactan in the form of potassium salt, obtained at the A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Ludipress®; AEROSIL® 200 Pharma; calcium stearate; Aquacoat ECD. The powder mixtures were briquetted followed by tableting and application of the finished film coating Aquacoat ECD, and encapsulation in hard gelatin capsules.

Results. Composition and technological characteristics of capsules and film-coated tablets were determined using physico-chemical and technological properties of sulfated arabinogalactan in the form of potassium salt. Technological parameters and quality indicators were determined for the solid pharmaceutical dose forms in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIVth edition.

Conclusion. The optimum compositions and technology for the preparation of capsules and film-coated tablets based on potassium salt of sulfated arabinogalactan for the prevention and treatment of atherosclerotic lesion of blood vessels, were developed. The data obtained were used for the regulatory documentation design.

Keywords: sulfated arabinogalactan; film-coated tablets; capsules; production technology

Abbreviations: RF – the Russian Federation; SB RAS – Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; FDF – finished dosage form; GPhM – General Pharmacopoeial Monograph; FFC – finished film coating.

ВВЕДЕНИЕ

Атеросклеротическое повреждение кровеносных сосудов одно из самых распространенных и серьезных нарушений системы гомеостаза. Применение лекарственных средств с поливалентным механизмом фармакологического действия для профилактики и лечения данной патологии обоснованно, а использование в этом качестве гепариноидов – перспективно [1–8].

За рубежом препараты на основе природных и полусинтетических гепариноидов в качестве гиполипидемических средств используются в ограниченном количестве [9–13], в виду своих физико-химических свойств (чрезвычайно легко разрушаются в пищеварительном тракте, вследствие чего нарушается их всасывание и поступление в кровь)¹.

В Российской Федерации (РФ) гепариноиды представлены лекарственными препаратами на основе сулодексида, которые оказывают ангиопротекторное, профибринолитическое и антитромботическое действия². Сулодексид – это органолепеприпарат, получаемый из слизистой оболочки тонкого кишечника свиньи и представляющий собой естественную смесь гликозаминогликанов (80% гепариноподобной фракции с молекулярной массой 8 кДа и 20% дерматансульфата [14–15]. Клиническими многоцентровыми плацебо-контролируемыми исследованиями была доказана эффективность применения сулодексида в качестве средства для вторичной профилактики коронарного атеросклероза и его осложнений [16–18]. Лекарствен-

ные средства на основе сулодексида могут вызывать серьезные побочные эффекты в виду особенности технологии получения органолепеприпаратов, одним из которых является наличие в их составе следов белка и гистамино-подобных веществ, способных привести к появлению аллергических реакций при применении³.

Таким образом, поиск гепариноидов, лишенных подобных недостатков, является актуальной проблемой медицинской и фармацевтической науки.

Направленная химическая модификация арабиногалактана – основного полисахарида лиственницы сибирской, позволила разработать на его основе Иркутским институтом химии им. А.Е. Фаворского СО РАН оригинальное фармакологически активное соединение – сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли (Агсулар®)⁴. Это полусинтетический гепариноид, проявляющий антикоагулянтную и гиполипидемическую активность, имеющий высокий показатель величины относительной биологической доступности при пероральном применении (54,4%) [19]. Усовершенствованная технология синтеза сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли позволила получить субстанцию фармацевтической степени чистоты [20, 21], безопасность и эффективность которой доказана в ходе доклинических исследований, проведенных совместно с Институтом токсикологии Федерального медико-биологического агентства (г. Санкт-Петербург) в 2009–2011 гг. [22, 23].

Таким образом, сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли является перспективным объектом для разработки на его основе пероральных лекарственных форм. На сегодняшний день

¹ Рыженков В.Е., Макаров В.Г., Ремезова О.В., Макарова М.Н. Методические рекомендации по изучению гиполипидемического и антисклеротического действия лекарственных средств // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – С. 445–452.

² Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>

³ Яковлев В.Б., Золотухин С.И. Органотерапия // Большая медицинская энциклопедия, академик Б.В. Петровский (ред.), 3-е изд. – М.: Советская энциклопедия, 1981. – Т. 17. – С. 392.

⁴ Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН. Свидетельство на товарный знак «Агсулар®» 398618. РФ. – 2010.

наиболее востребованы пероральные готовые лекарственные формы (ГЛФ) в виде таблеток и капсул, имеющие широкий спектр возможностей и преимуществ [24–25].

ЦЕЛЬ. Создание на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли твердых дозированных лекарственных форм для перорального применения (таблеток, покрытых пленочной оболочкой, и капсул) для профилактики и лечения атеросклеротического повреждения сосудов, которые в дальнейшем будут пригодны для клинического исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

В работе использованы: сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли (Агсулар®), полученный согласно разработанной методики [20, 21]; Ludipress® (BASF, Германия); коллоидный диоксид кремния – AEROSIL® 200 Pharma (Evonik Degussa, Германия); кальция стеарат, ч.д.а. (ТУ 2432-061-56856807-04); Aquacoat ECD (FMC, США); вода очищенная (ФС.2.2.0020.18)⁵.

Изучение физико-химических свойств

Форму и размер частиц определяли при помощи сканирующей электронной микроскопии, выполненной на сканирующем электронном микроскопе SEM 525-M (Philips, Нидерланды) и методом динамического светорассеяния с использованием анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instrument, Великобритания). Измерения проводили на углах 13° и 173° в пластиковых кюветах (1×1 см). Средний гидродинамический диаметр рассчитывали из анализа флуктуаций интенсивности светорассеивания сферических частиц. Результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения Dispersion technology Zetasizer family software v7.01.

Средневесовую молекулярную массу определяли методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии на хроматографе Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, Германия), колонка PL aquagel-ОН 408 нм, 300×7,5 мм, детектор – рефрактометр, концентрация пробы 1 мг/мл, объем пробы 20 мкл. Элюирование проводили 0,1 М водным раствором нитрата лития (LiNO₃) при 30°C со скоростью элюента 1 мл/мин. Для калибровки колонки использовали D-галактозу и декстраны с молекулярными массами 5, 12 и 25 кДа (Sigma, США). Расчеты проводили при помощи программного обеспечения Agilent ChemStation.

Элементный анализ выполнен на автоматическом элементном анализаторе Flash2000 (Thermo Scientific, Италия).

Растворимость определяли по методике, описанной в ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость»⁶.

Среднюю плотность (ρ_{cp} , кг/м³) определяли отношением массы пробы ($m \geq 0,3$ кг) ко всему занимаемому ей объему (V) в естественных условиях, включая имеющиеся в ней пустоты и поры ($V_{пор.}$), и рассчитывали по формуле:

$$\rho_{cp} = \frac{m}{V} = \frac{m}{V_{m.ф.} + V_{пор.}}, \quad (1)$$

где: ρ_{cp} – средняя плотность, кг/м³; m – массы пробы, кг; V – объем пробы, м³; $V_{m.ф.}$ – объем твердой фазы, м³; $V_{пор.}$ – объем пустот и пор, м³.

Удельную поверхность ($S_{уд.}$, м²/кг) определяли как сумму поверхности всех частиц, общая масса которых равна 1 кг и рассчитывали по формуле:

$$S_{уд.} = \frac{k}{d_{m.ф.} \times \rho_{cp}}, \quad (2)$$

где: $S_{уд.}$ – удельная поверхность, м²/кг; k – коэффициент формы частиц; $d_{m.ф.}$ – диаметр частиц твердой фазы, м; ρ_{cp} – средняя плотность, кг/м³.

Гигроскопичность (H , %) определяли в экстремальных условиях (в камере с относительной влажностью воздуха 100% в течение 24 часов) [26]. Кинетику влагопоглощения рассчитывали по формуле:

$$H = \frac{(m - m_0) \times 100\%}{m}, \quad (3)$$

где: H – гигроскопичность, %; m_0 – масса порошка до выдерживания в камере со 100% влажностью воздуха, г; m – масса порошка после выдерживания в камере со 100% влажностью воздуха, г.

Изучение технологических свойств

Фракционный (гранулометрический) состав определяли по методике, описанной в ОФС.1.1.0015.15 «Ситовой анализ»⁷ на автоматическом рассеивателе WEB (MLW-Labortechnik, Германия).

Сыпучесть (г/с), угол естественного откоса (°) и насыпную плотность (г/мл) определяли по методикам, описанным в ОФС.1.4.2.0016.15 «Степень сыпучести порошков»⁸, на устройстве для определения текучести ТК-1 (Фарматех, Украина) и на устройстве для вибрационного уплотнения порошков 545-P-AK-3 (Фарматех, Украина).

Прессуемость (прочность на излом, Н) определяли по следующей методике: навеску (0,3 г) порошка спрессовывали в матрице с диаметром 9 мм на ручном гидравлическом прессе ПГР 400 (Инфраспек, Россия) при давлении 120 МПа. После выталкивания таблетки из матрицы, определяли прочность на сжатие с помощью тестера прочности таблеток и гранул ТТ-03 (Китай) в кг нагрузки, которую пересчитывали в Н [26].

Индекс Хауснера рассчитывали по формуле:

⁵ Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. I–IV. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://femb.ru/pharmacopea.php>

⁶ Там же.

⁷ Там же.

⁸ Там же.

$$\text{Индекс Хауснера} = \frac{\rho_{\text{нас1}}}{\rho_{\text{нас0}}}, \quad (4)$$

где: $\rho_{\text{нас0}}$ – насыпная плотность до уплотнения, кг/м³; $\rho_{\text{нас1}}$ – насыпная плотность после уплотнения, кг/м³ [27].

Индекс Карра (%) рассчитывали по формуле [28]:

$$\text{Индекс Карра} = \frac{100\% \times (\rho_{\text{нас1}} - \rho_{\text{нас0}})}{\rho_{\text{нас1}}}, \quad (5)$$

где: $\rho_{\text{нас0}}$ – насыпная плотность до уплотнения, кг/м³; $\rho_{\text{нас1}}$ – насыпная плотность после уплотнения, кг/м³.

Технология получения таблеток

Брикетирование проводили из порошковой смеси действующего и вспомогательных веществ, полученной в «плуговом» миксере PSM (Pharmag, Германия) при скорости 50–250–450 об/мин в течение 30 мин, на ручном гидравлическом прессе ПГР 400 (Инфраспек, Россия). Диаметр матрицы – 25 мм при давлении от 20 МПа. Брикеты размалывали в сухом грануляторе DG (Pharmag, Германия).

Фракционирование полученных гранул осуществляли на автоматическом рассеивателе WEB (MLW-Labortechnik, Германия), отбирая гранулы размером не менее 1 мм.

Для таблетирования использовали пуансоны к таблеточному прессу CPR-6 (Dott. Vonarase&C s.r.l., Италия), позволяющие получить двояковыпуклые таблетки диаметром 12 мм.

Нанесение 30% водной дисперсии пленочного покрытия Aquacoat ECD выполняли в коатере CP-9 (Pharmag, Германия) при фиксации рабочего угла установки 45°. Покрываемые таблетки подсушивали в инфракрасном свете (150 W).

Технология получения капсул

Для капсулирования использовали готовые полузакрытые твердые желатиновые капсулы Empty Hard Gelatin Capsules (Shaanxi Genex Bio-Tech Co., Ltd, Китай) размерами № 00-1, наполнение которых осуществляли при помощи комплектов ручных машинок MC-1,2 (Multipharma, Италия) соответствующего размера.

Оценка качества ГЛФ

Качество полученных ГЛФ оценивали по стандартным фармакопейным методикам⁹:

1. ОФС.1.4.2.0009.15 «Однородность массы дозированных лекарственных форм» – определение однородности массы содержимого капсул осуществляли, используя весы лабораторные электронные ЛВ 120-А (Сартогосм, Россия);

2. ОФС.1.4.2.0008.15 «Однородность дозирования» – определение равномерности распределения действующего вещества по отдельно взятым единицам дозированных ГЛФ (капсулы и таблетки, покрытые пленочной оболочкой) проводили по способу 2, используя весы лабораторные электронные ЛВ 120-А (Сартогосм, Россия);

3. ОФС.1.4.2.0013.15 «Распадаемость таблеток и капсул» – определение распадаемости проводили в среде воды очищенной, используя лабораторный идентификатор процесса распадаемости 545 АК-00-00 (Фарматех, Украина).

4. ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» – определение количества действующего вещества, высвобождающегося из ГЛФ за определенных промежутков времени, проводили в среде воды очищенной, используя устройство для определения растворимости 545 АК7-00-00 (Фарматех, Украина) спектрофотометрическим методом на UV/VIS спектрометре Lambda 35 (Perkin Elmer, США).

5. ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки» – определение количества вспомогательных веществ (аэросил и кальция стеарат) проводили гравиметрическим методом, используя весы лабораторные электронные ЛВ 120-А (Сартогосм, Россия).

Статистическая обработка результатов

Все полученные данные были статистически обработаны (P=95%) при помощи критерия Стьюдента в соответствии требованиями ОФС.1.1.0013.15¹⁰.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Физико-химические и технологические свойства

Для получения дозированных лекарственных форм наиболее перспективным методом является прямое прессование. Этот способ таблетирования порошковых масс экономически выгоден и технологичен. Однако, несмотря на преимущества этого метода, прямое прессование осуществляется для ограниченного ассортимента фармацевтических субстанций и зависит от их физико-химических и технологических свойств [29].

Сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли (рис. 1) представляет собой гидрофильный функционализированный биополимер, в котором сульфатные группы находятся при атомах С2 и С4 основной галактановой цепи и при атоме С6 концевых остатков галактозы основной и боковой цепей полисахарида. По данным элементного анализа и характеристик молекулярно-массового распределения значение степени замещения макромолекулы составляет 0,4, т.е. на одну структурную единицу биополимера приходится порядка одной сульфатной группировки [21].

⁹ Там же.

¹⁰ Там же.

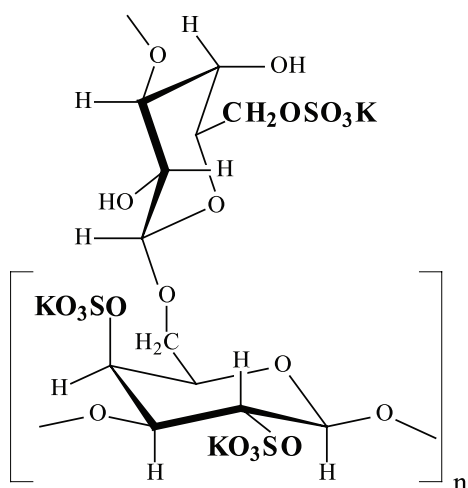


Рисунок 1 – Фрагмент структуры сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли

По внешнему виду это белый или белый со слегка кремовым оттенком аморфный порошок со слабым характерным запахом. По данным сканирующей электронной микроскопии (рис. 2А) его частицы имеют сферическую форму и образуют крупные агломераты, размер которых находится в интервале 200–600 нм (рис. 2Б).

Для оценки пригодности сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли к таблетированию методом прямого прессования были проведены исследования его физико-химических (табл. 1) и технологических свойств (табл. 2).

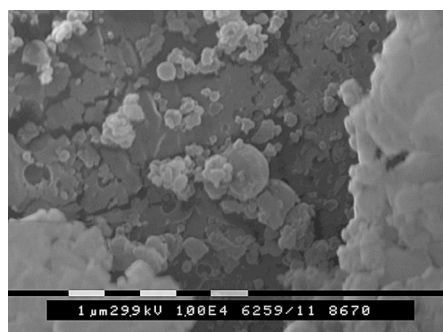
Результаты проведенных экспериментов показали, что сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли представляет собой мелкодисперсный аморфный порошок с высокой гигроскопичностью (20,07%), практически однородный по гранулометрическому составу, который не соответствует требованиям, предъявляемым к порошкам для прямого прессования, так как обладает низкими технологическими свойствами.

Как известно, наилучшим образом поддаются прямому прессованию порошки с размером частиц 0,5–1 мм [24]. У сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли этот показатель составляет всего 8,6%, а количество мелкой фракции при этом достигает более 79%, что существенным образом влияет на сыпучесть материала, приводя практически к полному ее отсутствию (1 г/с). При этом не вся проба самотеком высыпалась из воронки прибора, происходило частичное зависание, пыление и электризация порошка. Индекс Карра (24,91%) и индекс Хауснера (1,33) подтверждают весьма плохую прессуемость (24,5Н) сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли, сопровождающуюся сложностью заполнения матрицы и выталкивания из нее готовой таблетки. Все это в дальнейшем может привести к нарушению точности дозирования действующего вещества в ГЛФ.

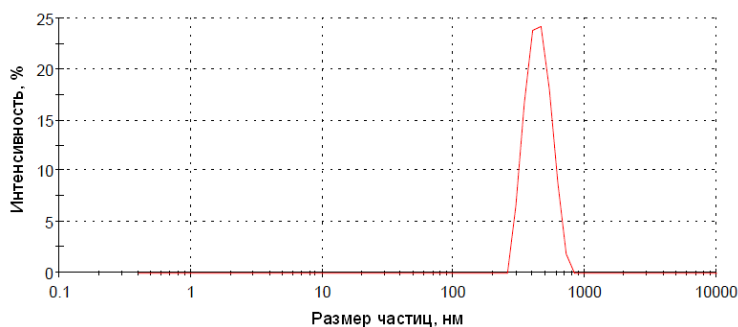
В связи с вышеизложенным, дальнейшим этапом исследований стало приведение технологических свойств сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли к свойствам технологически кондиционной массы, пригодной для получения таблетированной ГЛФ методом прямого прессования.

Технология получения таблетированной ГЛФ

Ранее нами была разработана таблетированная ГЛФ на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в дозировке активного компонента 500 мг, в которой в качестве вспомогательных веществ были использованы лактоза безводная, поливинилпирролидон низкомолекулярный и аэросил [34]. Срок хранения таблеток, полученных методом прямого прессования с монокомпонентным составом вспомогательных веществ, составил не более 2,5 лет ввиду высокой гигроскопичности сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли и отсутствия у таблеток защитной от воздействия атмосферной влаги оболочки.



А



Б

Рисунок 2 – Форма и размер частиц сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли

Примечание: А – сканирующая электронная микроскопия (200–600 нм);
Б – метод динамического светорассеяния (585,9 нм)

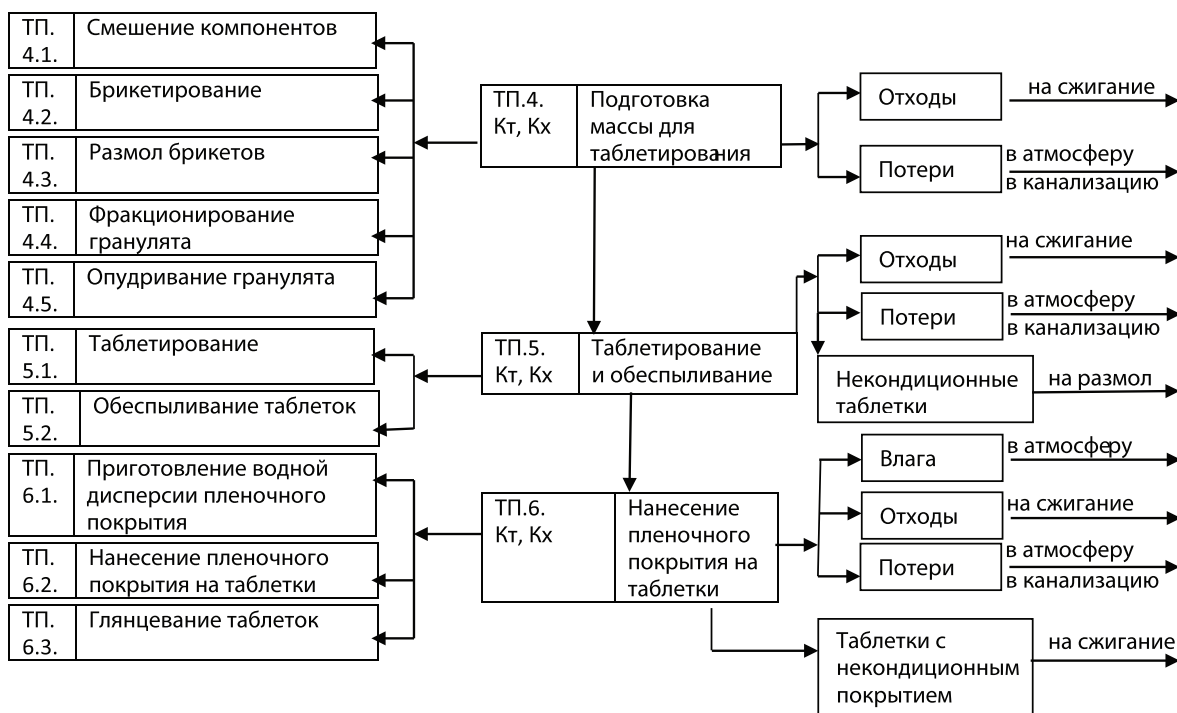


Рисунок 3 – Фрагмент технологической схемы производства «Агсулар®» таблеток, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг

Примечание: Кт, Кх – соответственно технологический и химический контроль

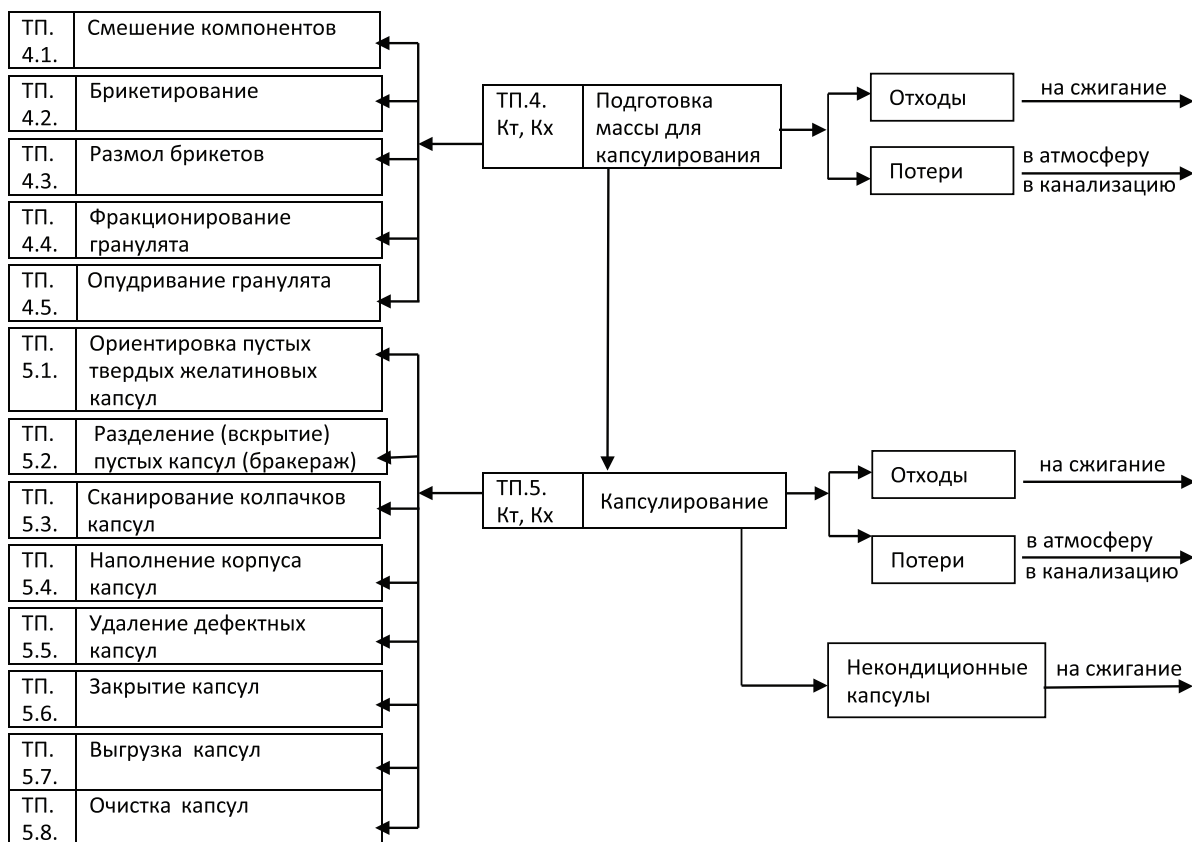


Рисунок 4 – Фрагмент технологической схемы производства «Агсулар®» капсулы 500 мг

Примечание: Кт, Кх – соответственно технологический и химический контроль

Таблица 1 – Физико-химические свойства сульфатированного арабиногалактан в виде калиевой соли

Средневесовая молекулярная масса, кДа	Растворимость, кг/м ³	Средняя плотность, кг/м ³	Удельная поверхность, м ² /кг	Гигро-скопичность, %	Найдено Вычислено (%)			
					С	Н	S	К
27,5	300; H ₂ O	843,17	13,88	20,07	26,63 25,39	2,26 3,23	11,01 11,48	15,55 13,99

Таблица 2 – Технологические параметры сульфатированного арабиногалактан в виде калиевой соли

Технологическая характеристика	Экспериментальные данные	Референтные значения
Гранулометрический состав	Фракции: < 0,25 мм 19,8%; 0,25–0,5 мм 59,5%; 0,5–1,0 мм 8,6%; 1,0–2,0 мм 10,5%; 2,0–3,0 мм 1,4%; > 3,0 мм 0,2%	Гранулометрический состав: более 60 % должны составлять фракции с размером частиц 0,5–2 мм; менее 20 % – фракции с размером частиц до 0,2 мм [30].
Сыпучесть, г/с	1,00±0,05	8,6–12 г/с – отличная; 6,6–8,5 г/с – хорошая; 3–6,5 г/с – удовлетворительная; 2–3 г/с – допустимая; 1–2 г/с – плохая; 0,3–1 г/с – очень плохая [31].
Угол естественного откоса, °	43–45	25–30° – очень хорошая степень сыпучести; 31–35° – хорошая степень сыпучести; 36–45° – удовлетворительная степень сыпучести; 46–55° – неудовлетворительная степень сыпучести (требуется дополнительное перемешивание или вибрация); 56–65° – плохая степень сыпучести; > 66° – очень плохая степень сыпучести ¹¹ .
Прессуемость (прочность на излом), Н	24,50±1,14	> 70 Н – хорошая 40–70 Н – средняя < 40 Н – плохая [26].
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл	0,633±0,032	> 2,0 г/мл – весьма тяжёлые; от 1,1 до 2,0 г/мл – тяжёлые;
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	0,843±0,042	от 0,6 до 1,1 г/мл – средние; < 0,6 г/мл – лёгкие сыпучие материалы [31].
Индекс Хауснера	1,33	1,00–1,11 – очень хорошая сжимаемость; 1,12–1,18 – хорошая сжимаемость; 1,19–1,25 – средняя сжимаемость; 1,26–1,34 – удовлетворительная сжимаемость; 1,35–1,45 – плохая сжимаемость; 1,46–1,59 – очень плохая сжимаемость; > 1,60 – очень, очень плохая сжимаемость [32].
Индекс Карра, %	24,91	10 – очень хорошая сжимаемость; 11–15 – хорошая сжимаемость; 16–20 – средняя сжимаемость; 21–25 – удовлетворительная сжимаемость; 26–31 – плохая сжимаемость; 32–37 – очень плохая сжимаемость; > 38 – очень, очень плохая сжимаемость [33].

¹¹ Там же.

Таблица 3 – Состав и технологические характеристики таблеточных смесей на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли

Компоненты, технологические параметры	Таблеточные смеси, мас.%			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
Сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли	47,15	61,88	73,33	82,92
Лудипресс	47,15	30,94	18,34	13,27
Аэросил	4,70	6,18	7,33	3,31
Кальций стеариновоокислый	1,00	1,00	1,00	0,50
Сыпучесть, г/с	5,5±0,2	2,6±0,1	2,0±0,1	1,5±0,1
Технологические параметры смесей после брикетирования				
Сыпучесть, г/с	10,7±0,5	6,4±0,3	4,6±0,2	3,1±0,1
Прессуемость (прочность на излом), Н	44,5±2,2	15,0±0,7	11,2±0,5	9,7±0,4
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл	1,349±0,067	1,270±0,063	1,215±0,061	0,497±0,025
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	1,448±0,073	1,434±0,072	1,427±0,071	0,646±0,032
Индекс Хауснера	1,07	1,13	1,17	1,30
Индекс Карра, %	6,84	11,44	14,86	23,07

Таблица 4 – Показатели качества таблетированной ГЛФ на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли

Основные показатели	Методы ¹²	Нормы	Результат
Описание	Визуальный	Таблетки, покрытые пленочной оболочкой белого или почти белого цвета, круглые, гладкие, двояковыпуклые. На поперечном срезе ядро таблетки от белого до белого со слегка кремовым оттенком цвета.	Соответствует
Подлинность	1. Полисахаридные фрагменты	При добавлении капли спирта этилового 95% происходит помутнение раствора.	Выполняется
	2. Реакция метакромазии	При добавлении 0,005% раствора толуидинового голубого наблюдается изменение окраски раствора красителя с синей на сиреневую.	Выполняется
	3. Ионы калия (реакция Б) (ОФС 1.2.2.0001.15)	При добавлении разведённой уксусной кислоты и раствора натрия кобальтинитрита образуется жёлтый кристаллический осадок.	Выполняется
Однородность дозирования	Весовой (ОФС.1.4.2.0008.15)	Содержание субстанции сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в таблетках, покрытых оболочкой, определяют согласно способа 2. Объем выборки 10. Первый показатель приемлемости AV≤15%.	Выполняется
Распадаемость	Визуальный (ОФС.1.4.2.0013.15)	Не менее 16 из 18 образцов должны полностью распаться за 30 минут; среда растворения – вода очищенная	25,8 мин Соответствует
Растворение	Спектрофотометрический (ОФС.1.4.2.0014.15)	Высвобождение (не менее 75%) субстанции сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в течение 45 минут; среда растворения – вода очищенная	94,2% Соответствует
Определение вспомогательных веществ	Гравиметрический (ОФС.1.4.1.0015.15)	Содержание аэросила и кальция стеарата в таблетках, покрытых пленочной оболочкой, должно быть от 0,054 г до 0,066 г (0,06 г ± 10%) и не более 11% от средней массы таблетки (1,082 г) – 0,119 г.	0,059 г Соответствует
Количественное определение	Спектрофотометрический	Содержание субстанции сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в одной таблетке, покрытой пленочной оболочкой, должно быть от 0,475 г до 0,525 г (0,5 г±5%).	0,496 г Соответствует

¹² Там же.

Таблица 5 – Размер капсул для таблеточных смесей на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в зависимости от их технологических свойств

Параметры	Таблеточные смеси		
	№ 1	№ 2	№ 3
Средняя масса содержимого капсул, г	1,061	0,808	0,682
Допустимое отклонение, %	7,5		
Сыпучесть, г/с	10,7±0,5	6,4±0,3	4,6±0,2
Насыпная плотность до уплотнения, г/мл	1,349±0,067	1,270±0,063	1,215±0,061
Диапазон объема, занимаемого гранулятом, мл	0,77–0,81	0,62–0,66	0,55–0,58
Размер твердых желатиновых капсул	00	0	0
Насыпная плотность после уплотнения, г/мл	1,448±0,073	1,434±0,072	1,427±0,071
Диапазон объема, занимаемого гранулятом, мл	0,71–0,75	0,55–0,58	0,47–0,49
Размер твердых желатиновых капсул	00	0	1

Таблица 6 – Показатели качества капсулированной ГЛФ на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли

Основные показатели	Методы ¹³	Нормы	Результат
Описание	Визуальный	Твердые желатиновые капсулы № 1 или 0 или 00 с корпусом белого цвета и крышечкой розового цвета. Содержимое капсул – уплотненная масса от белого до белого со слегка кремовым оттенком цвета.	Соответствует
Подлинность	1. Полисахаридные фрагменты.	При добавлении капли спирта этилового 95% происходит помутнение раствора.	Выполняется
	2. Реакция метахромазии.	При добавлении 0,005% раствора толуидинового голубого наблюдается изменение окраски раствора красителя с синей на сиреневую.	Выполняется
	3. Ионы калия (реакция Б) (ОФС 1.2.2.0001.15)	При добавлении разведенной уксусной кислоты и раствора натрия кобальтинитрита образуется желтый кристаллический осадок.	Выполняется
Однородность массы	Весовой (ОФС.1.4.2.0009.15)	Средняя масса содержимого капсул № 00 от 0,981 до 1,141 г (1,061 ± 7,5%). Средняя масса содержимого капсул № 0 от 0,747 до 0,869 г (0,808 ± 7,5%). Средняя масса содержимого капсул № 1 от 0,631 до 0,733 г (0,682 ± 7,5%). Не более двух индивидуальных масс могут иметь отклонения от средней массы на величину, превышающую допустимое отклонение. При этом ни одна индивидуальная масса не должна отклоняться от средней массы на величину, в 2 раза превышающую допустимое отклонение.	Капсулы № 00 – 1,084 г; Капсулы № 0 – 0,798 г; Капсулы № 1 – 0,696 г. Соответствует
Однородность дозирования	Весовой (ОФС.1.4.2.0008.15)	Содержание субстанции сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в капсулах определяют согласно способу 2. Объем выборки 10. Первый показатель приемлемости AV ≤ 15%.	Выполняется
Распадаемость	Визуальный (ОФС.1.4.2.0013.15)	Не менее 16 из 18 образцов должны полностью распасться за 30 минут; среда растворения – вода очищенная	Капсулы № 00 – 27,4 мин; Капсулы № 0 – 26,2 мин; Капсулы № 1 – 26,6 мин; Соответствует
Растворение	Спектрофотометрический (ОФС.1.4.2.0014.15)	Высвобождение (не менее 75%) субстанции сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в течение 45 минут; среда растворения – вода очищенная	Капсулы № 00 – 91,8%; Капсулы № 0 – 90,8%; Капсулы № 1 – 91,3%. Соответствует
Определение вспомогательных веществ	Гравиметрический (ОФС.1.4.1.0015.15)	Содержание аэросила и кальция стеарата в капсулах № 00 должно быть от 0,054 г до 0,066 г (0,06 г ± 10%) и не более 11% от средней массы содержимого капсулы (1,061 г) – 0,117 г. Содержание аэросила и кальция стеарата в капсулах № 0 должно быть от 0,052 г до 0,064 г (0,058 г ± 10%) и не более 11% от средней массы содержимого капсулы (0,808 г) – 0,089 г. Содержание аэросила и кальция стеарата в капсулах № 1 должно быть от 0,051 г до 0,063 г (0,057 г ± 10%) и не более 11% от средней массы содержимого капсулы (0,682 г) – 0,075 г.	Капсулы № 00 – 0,058 г; Капсулы № 0 – 0,057 г; Капсулы № 1 – 0,062 г. Соответствует
Количественное определение	Спектрофотометрический	Содержание субстанции сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли в одной капсуле должно быть от 0,475 г до 0,525 г (0,5 г ± 5%).	Капсулы № 00 – 0,501 г; Капсулы № 0 – 0,511 г; Капсулы № 1 – 0,477 г. Соответствует

¹³ Там же.

Поэтому для повышения стабильности и увеличения сроков годности таблеток на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли были проведены дополнительные экспериментальные исследования по оптимизации состава и технологии (подбор современных высокоэффективных комбинированных вспомогательных веществ, улучшающих сыпучесть и прессуемость; выбор влагозащитного пленочного покрытия для таблеток; апробация широко используемого в фармацевтической технологии способа направленного укрупнения частиц – гранулирования).

Из большого ассортимента современных комбинированных вспомогательных веществ для исследования был выбран лудипресс – Ludipress[®], состоящий из комплекса α -лактозы моногидрата (93,4%) с поливинилпирролидоном (Kollidon 30) (3,2%) и поливинилпирролидоном трехмерным (Kollidon CL) (3,4%)¹⁴.

Лудипресс имеет тот же качественный состав ингредиентов, который применялся нами ранее для получения таблеток на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли, но отличающийся их оптимальным количественным содержанием. Это позволяет получать достаточно прочные таблетки при низком давлении прессования и улучшать технологические свойства активной субстанции [35].

Поскольку сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли – гигроскопичное и термолabile вещество, для улучшения сыпучести таблетлируемой смеси на ее основе и предотвращения дальнейшего расслаивания был опробован такой технологический прием, как брикетирование (разновидность метода сухого гранулирования) [36–37].

Для экспериментальных исследований были получены модельные составы таблеточных смесей и изучены их основные технологические свойства (табл. 3).

Как видно из представленных данных, технологическим требованиям процесса таблетирования методом прямого прессования соответствует только таблеточная смесь № 1, так как она обладает отличной сыпучестью и средней прессуемостью при очень хорошей сжимаемости [31, 38]. Полученные результаты подтверждают правильность выбора ее оптимального состава и технологии. Таблеточные смеси № 2 и № 3 могут быть использованы для получения ГЛФ в виде капсул.

С целью защиты сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли от воздействия атмосферной влаги для таблеток было экспериментально отобрано эффективное пленочное покрытие. Влагозащитными барьерными покрытиями чаще всего служат гидрофобные полимеры или гидрофобные

полимеры в комбинации с гидрофильными добавками, либо гидрофильные полимеры в комбинации с гидрофобными добавками [39]. В качестве пленкообразователей были выбраны структурообразующие соединения, способствующие защите таблеток от влаги, в частности не растворимая в воде, но проницаемая для водных растворов этилцеллюлоза [40] и цетиловый спирт; последний, помимо хорошей пленкообразующей способности, обладает эмульгирующими и стабилизирующими свойствами [41].

В современной фармацевтической технологии широко используются готовые пленочные покрытия (ГПК), включающие в оптимальных соотношениях пленкообразователь, пластификатор, краситель и растворитель, а также полупродукты (полуфабрикаты) в виде гранул (порошков), из которых пленкообразующий раствор (дисперсию) получают непосредственно перед применением с помощью соответствующего растворителя [42–45]. Из всего ассортимента ГПК, содержащих в своем составе этилцеллюлозу и цетиловый спирт, для экспериментальных исследований по защите таблеток, содержащих сульфатированный арабиногалактан в виде калиевой соли, от воздействия атмосферной влаги было выбрано ГПК Aquacoat ECD, используемое в виде 30%-ной водной дисперсии, получаемой непосредственно перед применением. Преимущества указанной ГПК – возможность ее применения не только для создания барьерного покрытия (нанесение в количестве 1–2% от массы таблетки), но и для поддержания pH-независимого заданного режима высвобождения (нанесение в количестве 8–15% от массы таблетки)¹⁵. Кроме того, ГПК Aquacoat ECD совместимо с большинством спирто- и пропиленгликольрастворимых красителей, а также различными типами пластификаторов. В результате получается высокопрочная, стабильная, легко растворимая в желудке оболочка, придающая таблетке приятный внешний вид и обеспечивающая эффективную защиту действующего вещества от атмосферной влаги [46].

Отработку технологии получения ГЛФ в виде таблеток, покрытых пленочной оболочкой, на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли по прописи таблеточной смеси № 1 осуществляли с помощью оборудования Pharmag и таблеточного пресса с одной станцией прессования CPR-6, используя метод сухой грануляции (брикетирование) согласно предложенной технологической схемы (рис. 3).

В результате были получены двояковыпуклые таблетки диаметром 12 мм высокой прочности (44,5±2,2 Н).

¹⁴ Ludipress[®] – Enabling efficient direct tableting. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.pharmaceutical.basf.com/en/Drug-Formulation/Ludipress.html>.

¹⁵ Aquacoat ECD – Aqueous Dispersion Coating System. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.zhion.com/pharmaceutics/Aquacoat_ECD.html

Оценка качества таблетированной ГЛФ

Оценку качества полученных таблеток проводили по следующим показателям: описание, подлинность, однородность дозирования, распадаемость, растворение, определение вспомогательных веществ (аэросил и кальция стеарат) и количественное определение (табл. 4).

Согласно проведенным исследованиям, разработанная твердая дозированная ГЛФ для перорального применения в виде таблеток, покрытых пленочной оболочкой, на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли выдерживает все испытания и полностью соответствует требованиям ОФС.1.4.1.0015.15 «Таблетки»¹⁶.

Полученные данные положены в основу разработки нормативной документации и лабораторного регламента на производство «Агсулар®» таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 500 мг».

Технология получения капсулированной ГЛФ

Для производства ГЛФ в виде капсул на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли гранулят, согласно прописям таблеточных смесей № 1–3, помещали в твердые желатиновые капсулы размером № 00-1 соответственно (табл. 5).

Отработку технологии получения ГЛФ в виде капсул на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли проводили на оборудовании Pharmag и комплектах ручных машинок для наполнения твердых желатиновых капсул (МС-1,2) соответствующего размера, позволяющих осуществлять принудительную подачу таблеточной смеси в капсулу и дополнительную подпрессовку материала согласно предложенной технологической схемы (рис. 4).

Оценка качества капсулированной ГЛФ

Готовые капсулы были подвергнуты контролю согласно разработанной спецификации (табл. 6). Исследовались показатели качества: описание, подлинность, однородность массы, однородность дозирования, распадаемость, растворение, определение вспомогательных веществ (аэросил и кальция стеарат), количественное определение.

Согласно проведенным исследованиям, разработанная твердая дозированная ГЛФ для перорального применения в виде капсул на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли выдерживает все испытания и полностью соответствует требованиям ОФС.1.4.1.0005.15 «Капсулы»¹⁷.

Полученные данные положены в основу разработки нормативной документации (проекта фармакопейной статьи «Агсулар®» капсулы 500 мг» и лабораторного регламента на производство ГЛФ).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате экспериментальных исследований были разработаны и апробированы оптимальные составы и технологические способы получения твердых дозированных лекарственных форм для перорального применения на основе сульфатированного арабиногалактана в виде калиевой соли (капсулы и таблетки, покрытые оболочкой) для профилактики и лечения атеросклеротического повреждения кровеносных сосудов. Полученные данные позволяют планировать плацебо-контролируемое клиническое исследование 1-й фазы.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена согласно планам НИР (государственное задание) по программе V.48 «Фундаментальные физико-химические исследования механизмов физиологических процессов и создание на их основе фармакологических веществ и лекарственных форм для лечения и профилактики социально значимых заболеваний» (2013–2020). Проект V.48.1.2. Поиск новых биологически активных веществ на основе биомассы хвойных пород Сибири и Дальнего Востока, скрининг биологической активности перспективных соединений. Разработка технологий получения природных субстанций и определение их практической значимости.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Я.А. Костыро – выполнение экспериментальных работ, обработка результатов исследования, написание текста статьи; К.В. Алексеев – разработка концепции и дизайна исследования, руководство проведением экспериментальных работ, редактирование текста статьи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Kumar N., Bentolila A., Domb A.J. Structure and biological activity of heparinoid // Mini Reviews in Medicinal Chemistry. – 2005. – Vol. 5, Issue 5. – P. 441–447. DOI: 10.2174/1389557053765538.
2. Borai I.H., Ezz M.K., Rizk M.Z., El-Sherbiny M., Matloub A.A., Aly H.F., Farrag A.R., Fouad G.I. Hypolipidemic and anti-atherogenic effect of sulphated polysaccharides from the green alga *Ulva fasciata* // Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. – 2015. – Vol. 31, Issue 1. – P. 1–12.
3. Park J., Yeom M., Hahm D-H. Fucoidan improves serum

¹⁶ Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. Т. I–IV.

¹⁷ Там же.

- lipid levels and atherosclerosis through hepatic SREBP-2-mediated regulation // *J. Pharmacol. Sci.* – 2016. – Vol. 131, Issue 2. – P. 84–92. DOI: 10.1016/j.jphs.2016.03.007.
4. Rizk M.Z. The anti-hypercholesterolemic effect of ulvan polysaccharide extracted from the green alga *Ulva fasciata* on aged hypercholesterolemic rats // *Asian J. Pharm. Clin. Res.* – 2016. – Vol. 9, Issue 3. – P. 165–176.
 5. Yokota T., Nomura K., Nagashima M., Kamimura N. Fucoidan alleviates high-fat diet-induced dyslipidemia and atherosclerosis in ApoE(shl) mice deficient in apolipoprotein E expression // *J. Nutr. Biochem.* – 2016. – Vol. 32. – P. 46–54. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.01.011.
 6. Deniaud-Bouët E., Hardouin K., Potin P., Kloareg B., Hervé C. A review about brown algal cell walls and fucose-containing sulfated polysaccharides: cell wall context, biomedical properties and key research challenges // *Carbohydr. Polym.* – 2017. – Vol. 175. – P. 395–408. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.07.082.
 7. Li W., Wang K., Jiang N., Liu X., Wan M., Chang X., Liu D., Qi H., Liu Sh. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of purified polysaccharides from *Ulva pertusa* // *J. Appl. Phycol.* – 2018. – Vol. 30. – P. 2619–2627. DOI: 10.1007/s10811-018-1475-5.
 8. Yulis K., Hakim B., Rosidah R. Effect of sodium alginate on prevention of hypercholesterolemia and atherosclerosis in rats // *Asian J. Pharm. Clin. Res.* – 2018. – Vol. 11, Issue 6. – P. 242–247. DOI: 10.22159/ajpcr.2018.v11i6.24768.
 9. Баркаган З.С. Гепариноиды, их виды и клиническое применение // Сулодексид. Механизмы действия и опыт клинического применения. – М., 2000. – С. 42–56.
 10. Masola V., Zaza G., Onisto M., Lupo A., Gambaro G. Glycosaminoglycans, proteoglycans and sulodexide and the endothelium: biological roles and pharmacological effects // *Int. Angiol.* – 2014. – Vol. 33, Issue 3. – P. 243–254.
 11. Xin M., Ren L., Sun Ya., Li H-h., Guan H.-Sh., He X.-X., Li Ch.-X. Anticoagulant and antithrombotic activities of low-molecular-weight propylene glycol alginate sodium sulfate (PSS) // *Eur. J. Med. Chem.* – 2016. – Vol. 114. – P. 33–40. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.02.063.
 12. Patil N.P., Le V., Sligar A.D., Mei L., Chavarria D., Yang E.Y., Baker A.B. Algal polysaccharides as therapeutic agents for atherosclerosis // *Front. Cardiovasc. Med.* – 2018. – Vol. 5. – P. 1–18. DOI: 10.3389/fcvm.2018.00153.
 13. Braga W.F., Aguilar E.C., Alvarez-Leite Ja.I. Fucoidans as a potential nutraceutical in combating atherosclerotic cardiovascular diseases // *Biomed. J. Sci. & Tech. Res.* – 2019. – Vol. 21, Issue 3. – P. 15953–15958. DOI: 10.26717/BJSTR.2019.21.003616.
 14. Coccheri S., Mannello F. Development and use of sulodexide in vascular diseases: implications for treatment // *Drug Des. Devel. Ther.* – 2014. – Vol. 8. – P. 49–65. DOI: 10.2147/DDDT.S6762.
 15. Hoppensteadt D.A., Fareed J. Pharmacological profile of sulodexide // *Int. Angiol.* – 2014. – Vol. 33, Issue 3. – P. 229–235.
 16. Condorelli M., Chiariello M., Dagianti A., Penco M., Dalla Volta S., Pengo V., Schivazappa L., Mattioli G., Mattioli A.V., Brusoni B., Trotta E., Bingamini A. IPO-V2: A prospective, multicenter, randomized, comparative clinical investigation of the effects of sulodexide in preventing cardiovascular accidents in the first year after acute myocardial infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1994. Vol. 23, Issue 1. – P. 27–34. DOI: 10.1016/0735-1097(94)90498-7.
 17. Coccheri S., Scondotto G., Agnelli G., Palazzini E., Zamboni V. Sulodexide in the treatment of intermittent claudication. Results of a randomized, double-blind, multicentre, placebo-controlled study // *Eur. Heart J.* – 2002. – Vol. 23, Issue 13. – P. 1057–1065. DOI: 10.1053/euhj.2001.3033.
 18. Chupin A.V., Katorkin S.E., Katelnitsky I.I., Katelnitskaya O.V., Prostov I.I., Petrikov A.S., Koshevoi A.P., Lyudkova L.F. Sulodexide in the treatment of chronic venous insufficiency: results of the All-Russian multicenter ACVEDUCT program // *Adv. Ther.* – 2020. – Vol. 37, Issue 5. – P. 2071–2082. DOI: 10.1007/s12325-020-01270-9.
 19. Костыро Я.А., Ковальская Г.Н., Силизерцева О.А., Ильина О.П. Экспериментальная фармакокинетика сульфатированного арабиногалактана при различных путях введения // *Фармация.* – 2008. – № 1. – С. 45–46.
 20. Пат. 2532915 C08B37/00 Способ получения сульфатированных производных арабиногалактана, обладающих антикоагулянтной и гиполипидемической активностью / Костыро Я.А., Станкевич В.К., Трофимов Б.А. // Патент РФ. 2014.
 21. Kostyroya Ya.A., Stankevich V.K. New approach to the synthesis of an active substance of Agsular® pharmaceutical for the prevention and treatment of atherosclerosis // *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.* – 2015. – Vol. 64, Issue 7. – P. 1576–1580. DOI: 10.1007/s11172-015-1044-x.
 22. Костыро Я.А., Колбасов С.Е. Исследование безопасности субстанции Агсулар® // *Эксперим. и клин. фармакол.* – 2017. – Т. 80, № 56. – С. 17.
 23. Костыро Я.А., Костыро В.В. Исследование фармакологической активности субстанции Агсулар® // *Эксперим. и клин. фармакол.* – 2018. – Т. 81, № 5. – С. 124. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-1-306.
 24. Меньшутина Н.В., Мишина Ю.В., Алвес С.В. Инновационные технологии и оборудование фармацевтического производства. – М.: Изд-во БИНОМ, 2012. – Т. 1. – 328 с.
 25. Alqahtani M.S., Kazi M., Alsenaidy M.A., Ahmad M.Z. Advances in Oral Drug Delivery // *Front. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – P. 1–21. DOI: 10.3389/fphar.2021.618411.
 26. Вальтер М.Б., Тютенков О.Л., Филиппин Н.А. Постадийный контроль в производстве таблеток. – М.: Медицина, 1982. – 208 с.
 27. Hausner H.H. Friction conditions in a mass of metal powder. // *Int. J. Powder Metall.* – 1967. – Vol. 3. P. 7–13.
 28. Carr R.L. Evaluating flow properties of solids. // *Chem. Eng.* – 1965. – Vol. 72. – P. 163–168.
 29. Iqbal M.K., Singh P.K., Shuaib M., Iqbal A., Singh M. Recent advances in direct compression technique for pharmaceutical tablet formulation // *Int. J. Pharm. Res. & Devel.* – 2014. – Vol. 6, Issue 1. – P. 49–57.
 30. Басов Н.И., Любартович В.А., Любартович С.А. Контроль качества полимерных материалов. Л.: Химия, 1990. – 112 с.
 31. Махкамов С.М. Основы таблеточного производства. – Ташкент: ФАН, 2004. – 148 с.
 32. Cain J. An alternative technique for determining ANSI/CEMA standard 550 flowability ratings for granular materials // *Powder Hand. Proc.* – 2002. – Vol. 14, Issue 3. – P. 218–220.
 33. Ogata K. A review: recent progress on evaluation of flowability and floodability of powder // *KONA Powder and Particle Journal.* – 2019. – Vol. 36. – P. 33–49. DOI: 10.14356/kona.2019002.
 34. Костыро Я.А., Ковальская Г.Н., Сухотерина Н.В., Турец-

- кова В.Ф. Таблетированная лекарственная форма препарата AGSK // XV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». – Москва, 2008. – С. 643.
35. Schmidt P.C., Rubensdörfer C.J.W. Evaluation of Ludipress as a “Multipurpose Excipient” for direct compression: Part I: Powder characteristics and tableting properties // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 1994. – Vol. 20, Issue 18. – P. 2899–2925. DOI: 10.3109/03639049409042687.
 36. Sridevi G., Korangi V., Latha S.M. Review on a novel approach in recent advances of granulation techniques and technologies // *Research J. Pharm. And Tech.* – 2017. – Vol. 10, Issue 2. – P. 607–617. DOI: 10.5958/0974-360X.2017.00119.6.
 37. Patil L.P., Rawal V.P. Review article on granulation process with novel technology: an overview // *Indian Journal of Applied Research*. – 2017. – Vol. 7, Issue 6. – P. 90–93. DOI: 10.36106/ijar.
 38. Aulton M.E. *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*. – Edinburgh: Churchill Livingstone, 2004. – 679 p.
 39. Могилюк В. Функциональные пленочные покрытия и практические аспекты их применения // *Фармацевтическая отрасль*. – 2016. – № 1. – С. 52–65.
 40. Wasilewska K., Winnicka K. Ethylcellulose – a pharmaceutical excipient with multidirectional application in drug dosage forms development // *Materials*. – 2019. – Vol. 12. – P. 1–21. DOI: 10.3390/ma12203386.
 41. Sepulveda E., Kildsig D.O., Ghaly E.S. Relationship between internal phase volume and emulsion stability: the cetyl alcohol / stearyl alcohol system // *Pharm. Devel. Tech.* – 2003. – Vol. 8, Issue 3. – P. 263–275. DOI: 10.1081/PDT-120022155.
 42. Porter S.C. Preventing film coating problems through design // *Pharmaceutical Technology*. 2016. – Vol. 28, Issue 2. – P. 43–46.
 43. Himaja V., Sai K.O., Karthikeyan R., Srinivasa B.P. A comprehensive review on tablet coating // *Austin Pharmacol. Pharm.* – 2016. – Vol. 1, Issue 1. – P. 1–8.
 44. Elder D. Design, formulation and manufacture of film-coated drug products // *Eur. Pharm. Rev.* – 2017. – Vol. 22, Issue 5. – P. 37–40.
 45. Zaid A.N. A comprehensive review on pharmaceutical film coating: past, present, and future // *Drug Design, Development and Therapy*. – 2020. – Vol. 14. – P. 4613–4623. DOI: 10.2147/DDDT.S277439.
 46. Amelian A., Winnicka K. Polymers in pharmaceutical taste masking applications // *Polimery*. – 2017. – Vol. 62, No.6. – P. 419–427. DOI: dx.doi.org/10.14314/polimery.2017.419.

АВТОРЫ

Костыро Яна Антоновна – кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник группы фармацевтической разработки ФГБУН «Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского» СО РАН. ORCID ID: 0000-0003-2660-4796. E-mail: yanakos@irioch.irk.ru

Алексеев Константин Викторович – доктор фармацевтических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории готовых лекарственных форм ФГБНУ «Научно-исследовательского института фармакологии им. В.В. Закусова». ORCID ID: 0000-0002-8350-2158. E-mail: alekseev@academpharm.ru

УДК 615.038



ИЗУЧЕНИЕ КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРОТИВОВИРУСНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ФАВИПИРАВИРА У КОМОРБИДНЫХ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 НА АМБУЛАТОРНОМ ЭТАПЕ ЛЕЧЕНИЯ

Л.А. Балыкова¹, О.А. Радаева¹, К.Я. Заславская², Ю.А. Костина¹, М.С. Искандярова¹,
Е.В. Негоднова¹, В.В. Еремеев¹, Л.Ф. Сабиров³, Е.В. Семелева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва» 430005, Россия, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Ульянова, д. 26а

² Общество с ограниченной ответственностью «Промомед ДМ» 129090, Россия, г. Москва, пр-т Мира, д. 13 стр. 1

³ Администрация Главы Республики Мордовия 430005, Россия, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Советская, 35

E-mail: radaevamed@mail.ru

Получено 12.11.2021

После рецензирования 03.12.2021

Принята к печати 05.12.2021

Артериальная гипертензия и ожирение, во многом, определяют вероятность тяжелого течения и летальных исходов при COVID-19. Этот факт обосновывает целесообразность раннего применения лекарственных средств прямого противовирусного действия с анализом эффективности не только в остром, но и постковидном периоде.

Цель. Провести анализ амбулаторных карт и историй болезни пациентов с COVID-19 для изучения влияния раннего (до 5-го дня от момента появления первых симптомов болезни) применения препарата на основе фавипиравира на частоту госпитализаций у пациентов с артериальной гипертензией и ожирением, а также определить особенности цитокинового статуса пациентов данной категории в постковидном периоде.

Материалы и методы. Проведено «Открытое проспективное сравнительное исследование эффективности применения препарата «Арепливир®» (фавипиравир) в дебюте COVID-19 у коморбидных пациентов» в Республике Мордовия (анализ частоты госпитализации и содержания в крови М-CSF, EPO у 218-ти больных в зависимости от применения противовирусного препарата).

Результаты. По результатам проведенного анализа установлено, что, не смотря на наличие коморбидных состояний, повышающих риск развития тяжелого течения COVID-19, а именно ожирения и эссенциальной артериальной гипертензии, в группе пациентов, принимавших фавипиравир, необходимость в госпитализации была в 2 раза ниже ($p < 0,05$), по отношению к группе сравнения. Анализ цитокинового статуса выявил, что в группе, принимавшей препарат на основе фавипиравира на амбулаторном этапе, средний уровень М-CSF в постковидном периоде был достоверно ниже ($p > 0,05$), а EPO – выше ($p > 0,05$), чем у пациентов из группы «без противовирусных препаратов на амбулаторном этапе», что косвенно, по полученным ранее данным, выступает потенциальным маркером снижения риска отдаленных сердечно-сосудистых осложнений COVID-19.

Заключение. Раннее назначение фавипиравира способствует снижению частоты госпитализации пациентов с COVID-19 даже на фоне сопутствующих АГ и ожирения из-за уменьшения вероятности среднетяжелого и тяжелого течения заболевания, а также приводит к более раннему объективному и субъективному выздоровлению. Показана высокая потенциальная польза раннего применения фавипиравира при новой коронавирусной инфекции и в отношении профилактики постковидных осложнений.

Ключевые слова: фавипиравир; COVID-19; новая коронавирусная инфекция; Арепливир

Список сокращений: АГ – артериальная гипертензия; СД – сахарный диабет; ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения; ТНМК – транзиторное нарушение мозгового кровообращения; ИМ – инфаркт миокарда; АлТ – аланинаминотрансфераза; АсТ – аспартатаминотрансфераза; ИМТ – индекс массы тела; КТ – компьютерная томография; ПЦР – полимеразная цепная реакция; ЭКГ – электрокардиограмма; ЖНВЛП – жизненно необходимые важнейшие лекарственные препараты; ЭАГ – эссенциальная артериальная гипертензия; М-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор; РНК – рибонуклеиновая кислота; ИФА – иммуноферментный анализ; ДИ – доверительный интервал; ГКС – глюкокортикостероиды; ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; TNF- α – фактор некроза опухоли альфа; 1 β -И β – интерлейкин.

Для цитирования: Л.А. Балыкова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, Ю.А. Костина, М.С. Искандярова, Е.В. Негоднова, В.В. Еремеев, Л.Ф. Сабиров, Е.В. Семелева. Изучение клинико-патогенетических эффектов противовирусного препарата на основе фавипиравира у коморбидных пациентов с COVID-19 на амбулаторном этапе лечения. *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):454-464. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-454-464

© Л.А. Балыкова, О.А. Радаева, К.Я. Заславская, Ю.А. Костина, М.С. Искандярова, Е.В. Негоднова, В.В. Еремеев, Л.Ф. Сабиров, Е.В. Семелева, 2021

For citation: L.A. Balykova, O.A. Radaeva, K.Ya. Zaslavskaya, Yu.A. Kostina, M.S. Iskandyarova, E.V. Negodnova, V.V. Yermeev, L.F. Sabirov, E.V. Semeleva. Study of clinical and pathogenetic effects of anti-viral drug based on favipiravir in comorbid patients with COVID-19 at the outpatient stage of treatment. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):454-464. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-454-464

STUDY OF CLINICAL AND PATHOGENETIC EFFECTS OF ANTI-VIRAL DRUG BASED ON FAVIPIRAVIR IN COMORBID PATIENTS WITH COVID-19 AT THE OUTPATIENT STAGE OF TREATMENT

L.A. Balykova¹, O.A. Radaeva¹, K.Ya. Zaslavskaya², Yu.A. Kostina¹, M.S. Iskandryarova¹, E.V. Negodnova¹, V.V. Yeremeev¹, L.F. Sabirov³, E.V. Semeleva¹

¹ National Research Mordovia State University

Bld. A, 26, Ulyanov St., Saransk, Republic of Mordovia, Russia, 430005

² Limited Liability Company "Promomed RUS"

Bld. 1, 13, Mir Ave., Moscow, Russia, 129090

³ Administration of the Head of the Republic of Mordovia

35, Sovetskaya Str., Saransk, Republic of Mordovia, Russia, 430005

E-mail: radaevamed@mail.ru

Received 12 Nov 2021

After peer review 03 Dec 2021

Accepted 05 Dec 2021

In many ways, arterial hypertension and obesity determine the likelihood of a severe course and lethal outcomes in COVID-19. This fact justifies the expediency of an early use of drugs with a direct antiviral action, the analysis of their efficacy not only in the acute, but also in the postcovid period.

The aim of the research was to analyze the outpatient cards and case histories of the COVID-19 patients to study the effect of the early (up to the 5th day after the onset of the first symptoms of the disease) use of the drug based on favipiravir, on the frequency of patients' hospitalizations with arterial hypertension and obesity, as well as to determine the cytokine status characteristics of this patient category in the postcovid period.

Materials and methods. "An open prospective comparative study of the "Areplivir" (favipiravir) efficacy in the debut of COVID-19 in comorbid patients" was carried out in the Republic of Mordovia (the analysis of the hospitalizations frequency and blood levels of M-CSF, EPO in 218 patients, in terms of the use of the antiviral preparation).

Results. According to the results of the analysis, it was found out that, despite the presence of comorbid conditions that increase the risk of developing a severe course of COVID-19, i.e. obesity and essential arterial hypertension, in the group of patients taking favipiravir, the need for hospitalization was twice as low ($p < 0.05$), in relation to the comparison group. The analysis of the cytokine status revealed that in the postcovid period, in the group that took the drug based on favipiravir at the outpatient stage, the average level of M-CSF was significantly lower ($p > 0.05$), and EPO was higher ($p > 0.05$) than in the patients from the group "without antiviral drugs at the outpatient stage". Indirectly, according to the previously obtained data, that acts as a potential marker for reducing the risk of long-term cardiovascular complications of COVID-19.

Conclusion. This study showed that an early prescription of favipiravir contributes to a decrease in the rate of COVID-19 patients' hospitalization even against the background of concomitant hypertension and obesity, due to a decrease in the likelihood of moderate and severe courses of the disease, and also leads to an earlier objective and subjective recovery. The results demonstrated a high potential benefit of an early favipiravir use in the novel coronavirus infection and in the prevention of postcovid complications.

Keywords: favipiravir; COVID-19; novel coronavirus infection; Areplivir

Abbreviations: AH – arterial hypertension; DM – diabetes mellitus; ACA – Acute Cerebrovascular Accident; TCA – Transient Cerebrovascular Accident; MI – myocardial infarction; ALT – alanine aminotransferase; AspAT – aspartate aminotransferase; BMI – body mass index; CT – computerized tomography; PCR – polymerase chain reaction; ECG – electrocardiogram; VED – Vital and Essential Drugs; EAH – essential arterial hypertension; MCSF – macrophage colony stimulating factor; RNA – ribonucleic acid; enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA – enzyme immunoassay; CI – confidence interval; GCS(s) – glucocorticosteroids; WHO – World Health Organization; TNF- α – tumor necrosis factor alpha; 1 β -IL β – interleukin.

ВВЕДЕНИЕ

Пандемия новой коронавирусной инфекции продолжает ставить все новые вызовы перед системой здравоохранения. Вопросы диагностики и профилактики COVID-19 во многом уже определены, однако стратегии лечения продолжают разрабатываться [1]. В последних шести версиях отечественных временных методических рекомендаций подчеркивается необходимость ранней специфической этиотропной терапии (в том числе, фавипиравиром) на амбулаторном этапе болезни (Временные методические рекомендации версии 7–13¹).

Артериальная гипертензия и ожирение (наиболее частые сопутствующие заболевания у пациентов с коронавирусной инфекцией) во многом определяют вероятность тяжелого течения и летальных исходов при COVID-19 [2]. Этот факт обосновывает целесообразность раннего применения данной категории лекарственных средств прямого противовирусного действия с анализом эффективности не только в остром, но и в постковидном периоде [3, 4].

Ранее установлена эффективность препаратов фавипиравира в отношении скорости элиминации вируса, положительной динамики состояния легочной ткани по данным компьютерной томографии (КТ) при SARS-CoV-2 инфицировании [5]. Однако опубликованных данных, демонстрирующих уменьше-

¹ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава России (версия 13.1 от 09.11.2021).

ние частоты тяжелого течения и летальных исходов коронавирусной инфекции на фоне приема препаратов фавипиравира, недостаточно [6], особенно у коморбидных пациентов высокого риска (с артериальной гипертензией (АГ), ожирением и сахарным диабетом). При проведении Chen C. с соавт. сравнительного анализа эффективности фавипиравира и арбидола для лечения COVID-19 было установлено, что при среднетяжелом течении заболевания у пациентов с сопутствующими АГ и/или сахарным диабетом временной отрезок до нормализации температуры тела и исчезновения кашля был достоверно короче в группе, применяющей фавипиравир, по сравнению с группой, использующей арбидол ($p < 0,001$) [7].

Опубликованные результаты демонстрируют максимальную эффективность противовирусной терапии [8, 9] при назначении в первые 5 дней заболевания, что актуализирует использование препарата и анализ его эффективности начиная с амбулаторного этапа лечения, особенно у пациентов из групп риска. Именно поэтому, распоряжением правительства РФ от 14.10.2021 № 2626-р², фавипиравир был включен в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП), что позволило компенсировать затраты на приобретение лекарств из фонда обязательного медицинского страхования и в максимально короткие сроки начать лечение.

В Республике Мордовия с сентября 2021 г. отмечалось осложнение ситуации по новой коронавирусной инфекцией. Так, за октябрь 2021 года, по оперативным данным ГАУЗ РМ «Медицинский информационно-аналитический центр по Республике Мордовия»³, зарегистрировано 13 414³ случаев новой коронавирусной инфекции COVID-19 (1722,0 на 100 тыс. населения), что на 7098 случаев больше, чем в сентябре 2021 года (6316 случаев – 810,8 на 100 тыс. населения). Иными словами, прирост заболеваемости составил 112,4%, а особенностями течения коронавирусной инфекции, вызванной штаммом «дельта» является быстрое прогрессирование заболевания и склонность к тяжелому течению. Руководством республики в сложившейся ситуации был предпринят ряд организационных мер в виде увеличения дополнительного коечного фонда инфекционного профиля на 185% (с 1503 койки до 2780 коек), но даже в этой ситуации стационарные койки работали с полной загрузкой, что актуализировало потребность в более активном лечении COVID-19 на амбулаторном этапе для потенциального снижения числа пациентов, требующих госпитализации. В рамках благотворительной программы Министерством

Здравоохранения Республики Мордовия 01.10.2021 г. и 12.10.2021 г. было получено 16038 упаковок лекарственного препарата «Фавипиравир» (Арепливир®), (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 200 мг № 40) для амбулаторного лечения пациентов с новой коронавирусной инфекцией, что позволило определить цель исследования.

ЦЕЛЬ. Провести анализ амбулаторных карт и историй болезни пациентов с COVID-19 с целью изучения влияния раннего (до 5-го дня от момента появления первых симптомов болезни) применения препарата на основе фавипиравира («Арепливир®») на частоту госпитализаций, в том числе у пациентов с АГ и ожирением, а также определить особенности цитокинового статуса пациентов данной категории в постковидном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С одобрения локального этического комитета при ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева» (протокол № 5 от 17 мая 2020) проведено «Открытое проспективное сравнительное исследование эффективности применения препарата «Арепливир» (фавипиравир) в дебюте COVID-19 у коморбидных пациентов» в Республике Мордовия. В исследование включены 1200 пациентов, получавших амбулаторное лечение на базе поликлиник г. Саранска, из них для 340 госпитализированных пациентов проанализированы данные историй болезни с марта по май 2021 года, а также в течение октября 2021 (время максимального использования фавипиравира на амбулаторном этапе). Диагноз COVID-19 был выставлен в соответствие с актуальными временными методическими рекомендациями по профилактике, диагностике и лечению новой коронавирусной инфекции⁴.

В исследование включались пациенты обоего пола с лабораторно и/или клинически подтвержденной новой коронавирусной инфекцией легкого и среднетяжелого течения, возрастом 48–80 лет в сочетании с ожирением и эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ) II стадии, установленной до инфицирования SARS-CoV-2 и контролируемой антигипертензивными средствами, с длительностью COVID-19 до назначения лечения не более 5-ти дней. Сформированы 2 группы пациентов. Группу сравнения составили пациенты, получавшие базовую противовоспалительную, антикоагулянтную, симптоматическую (по показаниям – антибактериальную) терапию коронавирусной инфекции, согласно временным методическим рекомендациям⁵ и не получавшие, по разным причинам, противовирусные препараты. Вторую группу составили пациенты, подобранные по типу случай-контроль, которые наряду

² Распоряжение Правительства Российской Федерации от 12.10.2020 № 2626-р. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202010140014>. (Дата обращения 24-11-2021).

³ ГАУЗ Республики Мордовия «Медицинский информационно-аналитический центр». [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://miacrm.ru>.

⁴ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава России (версия 13.1 от 09.11.2021).

⁵ Там же.

Таблица 1 – Характеристика включенных в исследование пациентов с COVID-19

Параметры анамнеза и состояния пациентов	Без приема противовирусных препаратов на амбулаторном этапе (n=98)	Принимавшие фавипиравир на амбулаторном этапе (n=120)
Длительность заболевания до начала терапии (дни)	3,12 [1,28–4,73]	3,17 [1,33–4,47]
Процент поражения легкого на 5-й день болезни (%)	6,82 [0–10,7]	8,12 [0–13,2]
Наличие коморбидных заболеваний	–	–
АГ	100%	100%
СД 2 типа	31,6% (31 человек)	51,6% (62 чел.)
Ожирение	100%	100%
ИМТ	36,2 [34,2–39,6]	37,6 [35,4–40,5]
SpO ₂ , %	98,4 [97,6–99,8]	97,9 [96,3–99]
СРБ, мг/л	6,3 [6,76–8,9]	5,7 [4,17–8,33]
D-димер, нг/мл	242 [180–430]	310 [287–402]
Глюкоза, ммоль/л	5,41 [4,8–11,2]	6,22 [4,66–10,9]
Гемоглобин, г/л	125 [112–137]	122 [117–141]

Таблица 2 – Применение препаратов из группы фавипиравира на амбулаторном этапе и особенности течения COVID-19 у пациентов с ЭАГ и ожирением (Ме [Q_{25%}–Q_{75%}])

Рассматриваемые группы	Номер группы	Количество нетрудоспособных дней	Время до нормализации температуры (дни)	Период до субъективного выздоровления (дни)*	Тяжесть течения, чел. (%)
Пациенты без госпитализации в период	–	–	Без ГКС	–	–
Без противовирусной терапии на амбулаторном этапе, n=53 чел.	1	15,3 [12,4–18,8]	5,47 [4,32–7,45]	61 [32–95]	легкое течение – 42 чел. (79,2%) среднетяжелое – 11 (20,8%)
Применение Фавипиравира на амбулаторном этапе, n=91 чел.	2	12,7 [10,1–14,3]	3,78 [2,16–4,22]	31 [16–9]	легкое течение – 84 чел. (92,3%) среднетяжелое – 7 чел. (7,7%)
Статистическая значимость	–	p ¹⁻² <0,05	p ¹⁻² <0,05	p ¹⁻² <0,001	p ¹⁻² <0,05
Госпитализированные после 5-го дня амбулаторной терапии	–	–	с ГКС	–	–
Без противовирусной терапии на амбулаторном этапе, n=45 чел.	3	34,7 [21,5–42,1]	3,97 [2,45–4,23]	74 [41–120]	среднетяжелое течение – 21 (46,7%) Тяжелое течение – 22 (48,8%) КТ-2 (4,5%)
Применение фавипиравира на амбулаторном этапе, n=29 чел.	4	25,9 [15,2–28,4]	4,12 [2,66–4,68]	35 [29–58]	среднетяжелое течение – 20 (68,9%) Тяжелое течение – 8 (27,6%) КТ-1 (3,5%)
Статистическая значимость	–	p ³⁻⁴ <0,01 p ¹⁻³ <0,001 p ²⁻⁴ <0,01	p ³⁻⁴ >0,05 p ¹⁻³ <0,05 p ²⁻⁴ >0,05	p ³⁻⁴ <0,01	p ³⁻⁴ <0,01

Примечание: * – по данным опроса после лабораторного выздоровления применяли критерий Манна-Уитни для несвязанных совокупностей; при указании степени достоверности.

Таблица 3 – Сравнительная характеристика уровней EPO и M-CSF (пг/мл) в сыворотке крови больных с АГ и ожирением через 10, 30 и 180 дней после перенесенного COVID-19 (Ме [Q25%–Q75%])

Без противовирусной терапии, n=42 чел.	EPO	M-CSF
начало терапии	98,3 [89,9–107]	287 [254–327]
через 10 дней после выздоровления	102 [95,5–108]	587 [538–702]
через 30 дней после выздоровления	105 [97,1–126]	724 [623–810]
через 180 дней после выздоровления	127 [98,8–140]	742 [669–856]
Статистическая значимость	p>0,05 ^{1-2, 2-3, 3-4} p<0,05 ¹⁻⁴	p<0,001 ^{1-2, 1-3, 1-4, 2-3, 2-4} p>0,05 ³⁻⁴
Фавипиравир, n=48 человек	EPO	M-CSF
начало терапии	95,4 [91,7–121]	307 [269–336]
через 10 дней	148 [110–169]	297 [248–410]
через 30 дней	162 [155–176]	307 [204–416]
через 180 дней	177 [159–202]	299 [242–457]
Статистическая значимость	p>0,05 ¹⁻⁵ p<0,05 ^{6-7, 7-8} p<0,001 ^{5-6, 5-7, 5-8, 2-6, 3-7, 4-8, 6-8}	p>0,05 ^{1-5, 5-6, 5-7, 5-8, 6-7, 7-8, 6-8} p<0,001 ^{2-6, 3-7, 4-8}

Примечание: уровень достоверности в соответствии с указанной группой на основании критерия Вилкоксона для связанных совокупностей и U-критерия Манна-Уитни для несвязанных совокупностей).

Таблица 4 – Анализ субъективных и объективных характеристик больных с АГ и ожирением через 180 дней после перенесенного COVID-19 (без госпитализации)

Оцениваемые характеристики	Без противовирусной терапии n=53 человек	Фавипиравир, n=91 человек
Кризовое течение АГ	26 чел. (49%)	8 чел. (8,79%)
Изменение режима антигипертензивной терапии	21 чел. (39,6%)	12 чел. (13,2%)
Утомляемость	42 чел. (79,2%)	32 чел. (35,1%)
Головокружение	7 чел. (13,2%)	2 чел. (2,2%)
Боль в мышцах и суставах	24 чел. (45,3%)	14 чел. (15,4%)

с противовоспалительной, антикоагулянтной и симптоматической терапией получали противовирусный препарат «Арепливир®» уже на амбулаторном этапе.

Препарат на основе фавипиравира, назначался внутрь за 30 мин до еды, по схеме: пациентам с массой тела менее 75 кг по 1600 мг (8 таб.) 2 раза в 1-й день терапии, далее со 2-го по 10-й день по 600 мг (3 таб.) 2 раза/сут.; пациентам с массой тела более 75 кг по 1800 мг (9 таб.) 2 раза в 1-й день терапии, далее (со 2-го по 10-й день терапии) по 800 мг (4 таб.) 2 раза/сут.) в соответствии с инструкцией по применению лекарственного препарата⁶.

Критерии невключения: ассоциированные клинические состояния в анамнезе (острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), инфаркт миокарда (ИМ), стенокардия, коронарная реваскуляризация, почечная недостаточность, сахарный диабет 1 типа, аутоиммунные, аллергические заболевания, симптоматическая АГ, применение глюкокортикостероидов, гидроксихлорохина, других противовирусных препаратов (кроме «Арепливира®») и/или иммуномодуляторов на амбулаторном этапе, вакцинация для профилактики

COVID-19 в анамнезе, отказ пациента от долгосрочного участия в исследовании. На постковидном этапе в течение 4-х месяцев (1 раз в 2 месяца) проводился опрос 218 пациентов указанных групп с регистрацией особенностей постковидного периода по разработанной анкете и верификация изменений на основе анализа амбулаторных карт пациентов. Показатель «количество дней до субъективного выздоровления» оценивался по периоду, который называл пациент во время телефонного опроса, субъективно отмечая восстановление работоспособности. С 1-го дня обращения за медицинской помощью, после подписания письменного информированного согласия, проведен забор крови с выделением сыворотки, которая была заморожена для хранения и последующего определения уровня цитокинов. Из числа пациентов, лечение которых завершилось без госпитализации, выделено 48 пациентов (из 91), принимающих фавипиравир амбулаторно, и 42 больных (из 53) не принимавших противовирусных препаратов. У всех больных в период терапии был проведен анализ амбулаторных карт с анализом уровней АлТ, АсТ, креатинина крови с расчетом скорости клубочковой фильтрации, а также контролем диспептических жалоб. Характеристики включенных с исследованием пациентов представлены в таблице 1.

⁶ Государственный реестр Лекарственных средств Российской Федерации. Арепливир®. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://grls.rosminzdrav.ru/ЛП-007609-171121>.

Получение биологического материала (кровь) для исследования производили с учетом положений Хельсинкской декларации ВМА (2013 г.)⁷ и протокола Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1999) с учетом дополнительного протокола к Конвенции по правам человека и биомедицине в области биомедицинских исследований (2005)⁸. Дополнительной забор крови у данной категории пациентов проводился через 10, 60, 180 дней после двух отрицательных результатов полимеразной цепной реакции (ПЦР) на наличие РНК SARS CoV-2 утром натощак (12 часов без приема пищи). Кровь центрифугировали с последующим отделением сыворотки и хранением в маркированных пробирках при температуре -30°C не более 45 суток. Уровни эритропоэтина (ЕРО) и макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) определяли методом ИФА в лаборатории кафедры иммунологии, микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО «МГУ им Н.П. Огарева» на иммуноферментном анализаторе «Personal Lab TM» (Adaltis, Италия). Выбор вышеуказанных цитокинов обоснован данными ранее проведенного собственного исследования, включающего 32 цитокина. Исследование посвящено изучению цитокинзависимых механизмов прогрессирования ЭАГ (10 лет динамического наблюдения 480 пациентов), с включением анализа в период после коронавирусной инфекции (1,5 года динамического). Это позволило выявить прогностическую значимость повышения M-CSF (выше 389 пг/мл) [4] и снижение ЕРО в качестве факторов риска сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ЭАГ в постковидном периоде, и маркеров эффективности амбулаторного применения фавипиравира в отношении отделенных осложнений COVID-19.

Средний возраст пациентов составил 59 (75% ДИ [48–80]) лет.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью Stat Soft Statistica 13.5. Результаты приведены с указанием медианы (Me) и перцентилей (Q 0,25–Q 0,75). Распределение показателей отличалось от нормального распределения Гаусса – Лапласа, поэтому при сравнении зависимых выборок использовали критерий Вилкоксона, для несвязанных выборок – U-критерий Манна-Уитни. Рассчитывался абсолютный и относительный риски с определением 95% доверительного интервала (ДИ), чувствительности и специфичности, χ^2 с поправкой Йейтса.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам проведенного анализа установлено, что, не смотря на наличие коморбидных состо-

яний, повышающих риск развития тяжелого течения COVID-19 – ожирения и эссенциальной АГ, в группе пациентов, принимавших фавипиравир, необходимость в госпитализации была в 2 раза ниже ($p < 0,05$), по отношению к группе сравнения (в группе «фавипиравира» – госпитализировано 29 чел. (24,2%), в группе «без противовирусных препаратов» – 45 чел (45,9%), в том числе за счет уменьшения ($p < 0,01$) числа лиц с тяжелым течением COVID-19 (госпитализация проводилась согласно критериям, описанным в рекомендациях⁹ Как следует из данных, представленных в таблице 2, при госпитализации на фоне прогрессирования заболевания у пациентов, не получавших противовирусные препараты, риск тяжелого течения болезни был в 3,36 раза выше (95% ДИ [1,57–7,23]%, чувствительность составляет 0,86; специфичность – 0,6, χ^2 с поправкой Йейтса, равной 10 ($p = 0,002$); коэффициент Пирсона равен 0,31 (связь умереннее, чем у пациентов, получавших препарат на основе фавипиравира).

Ранняя противовирусная терапия с использованием препарата на основе фавипиравира снижает длительность пребывания больных в стационаре: количество койко-дней без противовирусной терапии на амбулаторном этапе – 21,7 дней (18–31), при противовирусной терапии (фавипиравир) – 14,3 (9,7–17,1, $p < 0,01$), и повышает частоту значительного улучшения состояния легочной ткани по данным КТ на 10-й день лечения. Позитивная динамика по КТ при выписке (на 2 и более баллов по шкале ВОЗ) без противовирусной терапии на амбулаторном этапе – 23 чел. (51,1%), при противовирусной терапии (фавипиравир) – 21 чел. (72,4%), $p < 0,01$.

Анализ данных телефонного опроса в периоде восстановления (через 2 и 4 месяца после болезни) определил уменьшение количества дней до субъективного выздоровления у реконвалесцентов COVID-19 с АГ и ожирением в 2 раза при старте антивирусной терапии не позднее 5-го дня заболевания по сравнению с группой без ранней противовирусной терапии ($p < 0,001$). В группе больных, не принимавших противовирусных препаратов, в большем количестве случаев (34 чел. (75,5%) против 10 чел. (34,5%)), в группе с ранним применением фавипиравира на этапе стационарного лечения, назначались антибактериальные препараты вследствие присоединения вторичной бактериальной инфекции.

Анализ цитокинового статуса выявил, что в группе принимавших препарат на основе фавипиравира на амбулаторном этапе, средний уровень M-CSF в постковидном периоде был достоверно ниже ($p > 0,05$), а ЕРО – выше ($p > 0,05$), чем у пациентов из группы «без противовирусных препаратов на амбулаторном этапе» (табл. 3). При этом в дебюте заболевания пациенты обеих групп были сопоставимы по содержанию данных цитокинов.

⁹ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Минздрава России (версия 13.1 от 09.11.2021).

⁷ Association W.M. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects // JAMA. – 2013. – Vol. 310, No.20. – P. 2191–2194.

⁸ Холодова Е.И., Туршук Л.Д. Биоэтика и права человека: международно-правовое регулирование и пути имплементации // Актуальные проблемы российского права. – 2017. – №3. – С. 193–198. DOI: 10.17803/1994-1471.2017.76.3.193–198.

Пациенты с COVID-19, сопутствующей ЭАГ и ожирением, не нуждавшиеся в госпитализации, не принимавшие амбулаторно противовирусные препараты, характеризовались более низкими средними уровнями ЕРО сыворотки крови на 10 день, 30 и 180-й дни после клиничко-лабораторного выздоровления, чем пациенты, лечившиеся амбулаторно препаратом на основе фавипиравира ($p < 0,001$). Обратная тенденция выявлена при анализе содержания в сыворотке крови М-CSF: более высокие средние уровни данного цитокина зафиксированы у больных «без противовирусной терапии» с прогрессированием негативной динамики в постковидном периоде.

Таким образом, даже у пациентов с АГ и ожирением при раннем старте приема препарата Арепливир® не наблюдалось дисбаланса в выработке цитокинов ЕРО и М-CSF, что косвенно, по полученным ранее данным, может быть маркером снижения риска сердечно-сосудистых осложнений COVID-19.

Результаты анкетирования (опроса) реконвалесцентов коронавирусной инфекции с АГ и ожирением (получавших лечение в амбулаторных условиях без госпитализации) через 180 дней после выздоровления показали, что при раннем начале противовирусной терапии препаратом из группы фавипиравира кризовое течение АГ наблюдалось реже, чем в группе контроля. Более того, в рассматриваемой группе отсутствовала необходимость изменения схемы приема и дозы гипотензивных препаратов, реже наблюдались симптомы астении: повышенная утомляемость, слабость, головокружение, эмоциональная лабильность, боли в суставах и мышцах (табл. 4).

Важно отметить, что в группе реконвалесцентов COVID-19 и ЭАГ не принимавших противовирусные препараты на амбулаторном этапе лечения (98 человек) в течение 180 дней наблюдения после клиничко-лабораторного выздоровления зарегистрировано 5 случаев сердечно-сосудистых осложнений (5,1%): 3 случая – транзиторного нарушения мозгового кровообращения, 1 случай – острого нарушения мозгового кровообращения, 1 случай – инфаркта миокарда; из них 4 пациента характеризовались значительным (в 2 и более раза) индивидуальным увеличением содержания М-CSF в крови в период наблюдения в 2 и более раза на фоне снижения ЕРО на 35%. В группе, получавших лечение препаратом фавипиравира на амбулаторном этапе, случаев сердечно-сосудистых осложнений в период реконвалесценции после COVID-19 не выявлено (пациенты с индивидуальным увеличением в крови М-CSF на 100 и более процентов не определены).

Таким образом, раннее начало терапии фавипиравиром обеспечило снижение риска госпитализации и отягощения состояния, с одной стороны, а с другой – более быстрое восстановление после перенесенной коронавирусной инфекции и снижение риска развития ассоциированных сердечно-сосудистых осложнений.

По данным анализа карт амбулаторных пациен-

тов в период лечения острой фазы коронавирусной инфекции повышение уровня АлТ и/или АсТ выявлено у 4-х пациентов из 91 (4,39%) в группе, принимающих препарат на основе фавипиравира и у 1 из 53 (1,88%) в группе «без противовирусных препаратов». Субъективные жалобы на чувство тошноты, тяжести в правом подреберье в группе фавипиравира – 8 человек (8,79%), в группе «без противовирусных препаратов» – 4 пациента (7,55 %). Повышения уровня креатинина (скорости клубочковой фильтрации), мочевины выше референсных значений зарегистрировано не было. Полученные данные подтверждают предсказуемый благоприятный профиль безопасности исследуемого препарата на основе фавипиравира (Арепливир®) и согласуются с данными международных исследований [5, 7, 10, 11].

Анализ фармако-экономического эффекта повышения частоты раннего назначения препарата «Арепливир®» в Республике Мордовия в период с 1 октября 2021 по 1 ноября 2021 с учетом проводимой благотворительной акции (16 672 упаковки препарата были распределены среди 8 336 заболевших пациентов) выявил снижение уровня госпитализации в регионе за 1 месяц на 1757 человек при сопоставлении с сентябрем 2021. Так, по данным Министерства Здравоохранения Республики Мордовия несмотря на то, что количество инфицированных за рассматриваемый период увеличилось более, чем втрое, общее количество пациентов, нуждающихся в лечении в стационарных условиях (на круглосуточных койках инфекционного профиля), сократилось с 49,3% до 36,2%. С учетом средней стоимости лечения одного пациента в условиях стационара в рамках системы ОМС в Республике Мордовия это позволило снизить бюджетные расходы более, чем на 260 миллионов рублей.

Тарифное соглашение в системе обязательного медицинского страхования Республики Мордовия от 14.02.2021 (в редакции от 30.09.2021)¹⁰. Более того, по данным представленного исследования применение препарата на основе фавипиравира позволило сократить длительность пребывания больных в стационаре более, чем в 1,5 раза по сравнению с группой пациентов, не получавших противовирусную терапию на амбулаторном этапе, что обеспечило дополнительную экономию бюджетных средств. Также стоит отметить снижение нагрузки на систему социального обеспечения граждан за счет снижения числа дней нетрудоспособности у пациентов, получавших препарат фавипиравира, в дебюте болезни по сравнению с пациентами без противовирусной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

На сегодняшний день доступны результаты более 1000 исследований, посвященных изучению антиковидной активности препаратов на основе фавипи-

¹⁰ Тарифное соглашение в системе обязательного медицинского страхования Республики Мордовия от 14.02.2021 (в редакции от 30.09.2021). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/571071803>.

вира. При этом данные о влиянии препарата на такие контрольные точки, как смертность, длительность респираторной поддержки, а также длительность элиминации вируса по результатам ПЦР, варьируют в широких пределах, что подтверждается результатами опубликованных систематических обзоров [12, 13].

Ряд исследователей, исходя из иммунопатогенеза COVID-19, подчеркивают необходимость исследования эффективности препаратов из группы фавипиравира при раннем амбулаторном назначении [14, 15], с изучением данных о его влиянии на частоту госпитализаций. Согласно полученным данным, именно раннее (до 5-ти дней от дебюта первых симптомов) применение фавипиравира снизило частоту госпитализаций в 2 раза в группе коморбидных пациентов с COVID-19 на фоне АГ и ожирения – состояний, повышавших риск тяжелого течения и неблагоприятных исходов коронавирусной инфекции. Данный факт имеет как несомненное клиническое, так и социальное и медико-экономическое значение, учитывая разницу затрат на лечение амбулаторного и стационарного пациента. Стоит отметить, что согласно инструкции по медицинскому применению, назначение фавипиравира возможно как при подтвержденном SARS-CoV-2, так и при вероятном случае заболевания, диагностированного на основании характерной клинической симптоматики, что связано с прямым противовирусным действием препарата в отношении широкого спектра РНК-содержащих вирусов.

Доказанные в настоящем исследовании иммунопатогенетические и клинические эффекты препарата на основе фавипиравира, вероятнее всего, опосредованы подавлением вирусной репликации и снижением пиковой вирусной нагрузки [16] за счет избирательной блокады ключевого фермента репликации SARS-CoV-2 – РНК-зависимой-РНК-полимеразы [17–20]), что повышает вероятность эффективного иммунного ответа без гипервоспалительной фазы. Однако, даже в случае госпитализации при прогрессировании заболевания в группе пациентов с ранним началом лечения COVID-19 с использованием препарата фавипиравира в сравнении с группой без противовирусной терапии, определено снижение вероятности тяжелого течения COVID-19, что подчеркивает благоприятное влияния раннего старта терапии на особенности течения госпитального этапа. Кроме того, в рамках данного исследования, на основании рутинных биохимических тестов, нами еще раз была подтверждена безопасность использования препарата на основе фавипиравира.

Серьезным последствием SARS-CoV-2 инфицирования является дисбаланс в системе про- и противовоспалительных иммунорегуляторных пептидов (цитокинов), который может сохраняться после выздоровления, и определять прогрессирование существующих хронических заболеваний и патологических состояний, таких как АГ и атеросклероз, а также быть компонентом постковидного синдрома.

Опубликованные ранее данные о роли представи-

телей семейства М-CSF [22] в прогрессировании АГ в постковидном периоде могут объяснить влияние противовирусных препаратов фавипиравира не только на снижение риска тяжелого COVID-19, но и в аспекте профилактики прогрессирования хронических заболеваний в постковидный период, в частности развития фатальных и не фатальных сердечно-сосудистых осложнений. Выявленная нами связь применения препарата на основе фавипиравира с отсутствием снижения ЕРО в период после COVID-19, открывает перспективы нового направления для научного поиска: влияния схемы терапии на особенности постковидного периода у пациентов с АГ и ожирением. Важно отметить, что данные о снижении уровня ЕРО в сыворотке крови были получены в группе пациентов, которые не нуждались в госпитализации и характеризовались в большем проценте случаев легким течением COVID-19 несмотря на сопутствующую патологию. ЕРО – фактор, регулирующий не только эритропоэз, но и ряд иммунных механизмов за счет широкой презентации его рецепторов на клетках организма. Тканевая гипоксия, типичная для пациентов с COVID-19, должна активировать синтез данного цитокина [23], но, как установлено нами в ходе исследования, у пациентов, получавших противовирусную терапию, в дебюте болезни отмечалась обратная динамика.

Патофизиологическая регуляция ЕРО и провоспалительных TNF- α , IL-1 β цитокинов подчиняется принципу отрицательной обратной связи [24]. Следовательно, выявленное снижение ЕРО у пациентов, не получавших раннюю противовирусную терапию, ассоциировано с уменьшением противовоспалительного эффекта данного цитокина, что, возможно, определяет выявленный у данной категории пациентов больший спектр и частоту проявлений постковидного синдрома. Необходимо обозначить проблему ложного клинического благополучия у данной категории пациентов, так как, по представленным данным, у них сохраняется риск развития сердечно-сосудистых осложнений.

Научный интерес представляют данные, отражающие динамику содержания М-CSF в крови реконвалесцентов коронавирусной инфекции. Повышение его содержание в течение 180-ти дней постинфекционного периода может быть ассоциировано с прогрессированием эндотелиальной дисфункции или, возможно, повышением провоспалительной активности адипоцитов, которые могут длительно поддерживать репликацию вируса и определять дополнительный выброс в циркуляцию провоспалительных цитокинов [25]. Как установлено в нашем исследовании, раннее назначение противовирусного препарата на основе фавипиравира в схеме терапии коморбидных пациентов с COVID-19 снизило частоту развития ОНМК, ТНМК, ИМ, по сравнению с пациентами, не получавшими противовирусных препаратов. Безусловно, полученные данные требуют дальнейшего изучения на расширенной выборке больных.

Бесспорна актуальность продолжения анализа особенностей применения препаратов на основе фавипиравира. По собственным данным, назначение врачом препарата не сопровождается достоверным увеличением частоты нежелательных эффектов (повышение АлТ, АсТ, диспептические явления), которые можно расценить как связанные с применением препарата из группы фавипиравира (проводилось сопоставление с группой без использования противовирусной терапии у больных с COVID-19 на фоне АГ и ожирения). Ранее были опубликованы обзорные данные о потенциальном риске мутагенного эффекта препаратов на основе фавипиравира в отношении SARS-CoV-2 [26]. Важно отметить, что авторы подтверждают эффективность препарата в отношении блокирования вирусной репликации SARS-CoV-2, но обозначается вопрос, который, в первую очередь, актуален при несоблюдении рекомендуемых производителем доз и длительности применения препарата. При этом фундаментальные исследования о механизме действия препарата показывают [27–31], что нарушения нуклеотидных последовательностей, определяющих нарушения репликации РНК-вируса, вызывают процессы летального мутагенеза, что приводит к уничтожению частиц вируса, а не его изменчивости. Образующиеся обрывки РНК не представляют собой даже субгеномные фрагменты и не могут биологически представлять из себя мутации. Вопрос

актуальности его модификации с целью сохранения высокой эффективности в последующие годы требует дополнительных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное исследование показало, что раннее назначение фавипиравира способствует снижению частоты госпитализации пациентов с COVID-19 даже на фоне сопутствующих АГ и ожирения из-за уменьшения вероятности среднетяжелого и тяжелого течения заболевания, а также приводит к более раннему объективному и субъективному выздоровлению. Результаты продемонстрировали высокую потенциальную пользу раннего применения фавипиравира при новой коронавирусной инфекции и в отношении профилактики постковидных осложнений. Полученные результаты открывают перспективы дальнейших исследований, анализирующих индивидуальные цитокин-опосредованные варианты постковидного синдрома у пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений на фоне применения препаратов с молекулярно-таргетным противовирусным действием. Продemonстрированное нами влияние препарата «Арепливир®» на снижение социально-экономического бремени коронавирусной инфекции, подчеркивает целесообразность раннего назначения противовирусной терапии у коморбидных пациентов с COVID-19 высокого риска.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Клиническое исследование проводилось при поддержке компании ООО «Промомед РУС». Спонсор не оказывал влияния на выбор материала для публикации, анализ и интерпретацию данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Клиническое исследование было организовано ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва». ООО «Промомед ДМ» входит в группу компаний АО «Промомед». ООО «Промомед РУС» входит в группу компаний АО «Промомед». ООО «Промомед РУС» является держателем регистрационного удостоверения препарата «Арепливир» ЛП-006288 от 23.06.2020. Производителем препарата «Арепливир» является АО «Биохимик», который входит в группу компаний АО «Промомед». ООО «Промомед РУС» является инициатором благотворительной программы по обеспечению населения Республики Мордовии фавипиравиром. Администрация Главы Республики Мордовия – координатор благотворительной программы. ООО «Промомед РУС» является правообладателем патента на противовирусную композицию – Патент на изобретение №2751108 (заявка №2020119747, приоритет 15.06.2021; дата гос. регистрации 08.07.2021). Заславская К.Я. является директором по новым продуктам ООО «Промомед ДМ».

ВКЛАД АВТОРОВ

Л.А. Балыкова – разработка и реализация дизайна исследования, написание и редактирование текста; О.А. Радаева – проведение исследования, постановка цели, анализ результатов, написание текста; К.Я. Заславская – написание и редактирование текста; Ю.А. Костина – статистическая обработка результатов эксперимента; М.С. Искандярова – статистическая обработка результатов эксперимента, постановка цели исследования, аналитика полученных результатов; Е.В. Негоднова – статистическая обработка результатов эксперимента, постановка цели исследования, аналитика полученных результатов; В.В. Еремеев – статистическая обработка результатов эксперимента, постановка цели исследования, аналитика полученных результатов; Л.Ф. Сабилов – контроль забора материала; Е.В. Семелева – разработка и реализация дизайна исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Anka A.U., Tahir M.I., Abubakar S.D., Alsabbagh M., Zian Z., Hamedifar H., Sabzevari A., Azizi G. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): An overview of the immunopathology, serological diagnosis and management // Scand. J. Immunol. – 2021. – Vol. 93, No.4. – Art. No.e12998. DOI: 10.1111/sji.12998.
2. Richardson S., Hirsch J.S., Narasimhan M., Crawford

- J.M., McGinn T., Davidson K.W.; the Northwell COVID-19 Research Consortium, Barnaby D.P., Becker L.B., Chelico J.D., Cohen S.L., Cookingham J., Coppa K., Diefenbach M.A., Dominello A.J., Duer-Hefejele J., Falzon L., Gitlin J., Hajizadeh N., Harvin T.G., Hirschwerk D.A., Kim E.J., Kozel Z.M., Marrast L.M., Mogavero J.N., Osorio G.A., Qiu M., Zanos T.P. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area // *JAMA*. – 2020. – Vol. 323, No.20. – P. 2052–2059. DOI: 10.1001/jama.2020.6775.
3. Mitrani R.D., Dabas N., Goldberger J.J. COVID-19 cardiac injury: Implications for long-term surveillance and outcomes in survivors // *Heart Rhythm*. – 2020. – Vol. 17, No.11. – P. 1984–1990. DOI: 10.1016/j.hrthm.2020.06.026.
 4. Радаева О.А., Симбирцев А.С., Селезнева Н.М., Искандярова М.С. Изменение уровня макрофагального колониестимулирующего фактора в сыворотке крови пациентов с эссенциальной гипертензией после SARS-CoV-2 инфицирования // *Российский иммунологический журнал*. – 2020. – Т. 23, №4. – С. 429–436. DOI: 10.46235/1028-7221-430-SMC.
 5. Cai Q., Yang M., Liu D., Chen J., Shu D., Xia J., Liao X., Gu Y., Cai Q., Yang Y., Shen C., Li X., Peng L., Huang D., Zhang J., Zhang S., Wang F., Liu J., Chen L., Chen S., Wang Z., Zhang Z., Cao R., Zhong W., Liu Y., Liu L. Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study // *Engineering (Beijing)*. – 2020. – Vol. 6, No.10. – P. 1192–1198. DOI: 10.1016/j.eng.2020.03.007.
 6. Ongoing living update of covid-19 therapeutic options: summary of evidence: Rapid review, 2021. – Pan American Health Organization (PAHO). – 241 pp. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52719/PAHOIMSEIHCOVID1921018_eng.pdf?sequence=45&isAllowed=y.
 7. Chen C., Zhang Y., Huang J., Yin P., Cheng Z., Wu J., Chen S., Zhang Y., Chen B., Lu M., Luo Y., Ju L., Zhang J., Wang X. Favipiravir versus Arbidol for clinical recovery rate in moderate and severe adult COVID-19 patients: a prospective, multicenter, open-label, randomized controlled clinical trial // *Front. Pharmacol.* – 2021. – Vol. 12. – Art. No.683296. DOI: 10.3389/fphar.2021.683296.
 8. Goyal A., Cardozo-Ojeda E.F., Schiffer J.T. Potency and timing of antiviral therapy as determinants of duration of SARS-CoV-2 shedding and intensity of inflammatory response // *Sci. Adv.* – 2020. – Vol. 6, No.47. – Art. No. eabc7112. DOI: 10.1126/sciadv.abc7112.
 9. Joshi S., Parkar J., Ansari A., Vora A., Talwar D., Tiwaskar M., Patil S., Barkate H. Role of favipiravir in the treatment of COVID-19 // *Int J Infect Dis.* – 2021. – Vol. 102. – P. 501–508. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.10.069.
 10. Pilkington V., Pepperrell T., Hill A. A review of the safety of favipiravir – a potential treatment in the COVID-19 pandemic? // *J. Virus. Erad.* – 2020. – Vol. 6, No.2. – P. 45–51. DOI: 10.1016/S2055-6640(20)30016-9.
 11. Балыкова Л.А., Павелкина В.Ф., Шмырева Н.В., Пятаев Н.А., Селезнева Н.М., Шепелева О.И., Альмяшева Р.З. Сравнительная эффективность и безопасность различных схем этиотропной терапии у пациентов с новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) // *Фармация и фармакология*. – 2020. – Т. 8, № 3. – С. 150–159. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-3-150-159.
 12. Hassanipour S., Arab-Zozani M., Amani B., Heidarzad F., Fathalipour M., Martinez-de-Hoyo R. The efficacy and safety of Favipiravir in treatment of COVID-19: a systematic review and meta-analysis of clinical trials // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11, No.1. – Art. No.11022. DOI: 10.1038/s41598-021-90551-6.
 13. Manabe T., Kambayashi D., Akatsu H., Kudo K. Favipiravir for the treatment of patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis // *BMC Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 21, No.1. – Art. No.489. DOI: 10.1186/s12879-021-06164-x.
 14. Hanna C.R., Blyth K.G., Burley G., Carmichael S., Evans C., Hinsley S., Ibrahim Khadra I., Saye Khoo S., Lewsley L.A., Jones R.R., Sharma R., Taladriz-Sender A., Thomson E.C., Scott J.T. Glasgow Early Treatment Arm Favipiravir (GETAFIX) for adults with early stage COVID-19: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. 2020. – No.21(1). P. 935. DOI: 10.1186/s13063-020-04891-1.
 15. Brown L.K., Freemantle N., Breuer J., Dehbi H.M., Chowdhury K., Jones G., Ikeji F., Ndoutoumou A., Santhirakumar K., Longley N., Checkley A.M., Standing J.F., Lowe D.M. Early antiviral treatment in outpatients with COVID-19 (FLARE): a structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial // *Trials*. – 2021. – Vol. 22, No.1. – Art. No.193. DOI: 10.1186/s13063-021-05139-2.
 16. Doi Y., Hibino M., Hase R., Yamamoto M., Kasamatsu Y., Hirose M., Mutoh Y., Homma Y., Terada M., Ogawa T., Kashizaki F., Yokoyama T., Koba H., Kasahara H., Yokota K., Kato H., Yoshida J., Kita T., Kato Y., Kamio T., Kodama N., Uchida Y., Ikeda N., Shinoda M., Nakagawa A., Nakatsumi H., Horiguchi T., Iwata M., Matsuyama A., Banno S., Koseki T., Teramachi M., Miyata M., Tajima S., Maeki T., Nakayama E., Taniguchi S., Lim C.K., Saijo M., Imai T., Yoshida H., Kabata D., Shintani A., Yuzawa Y., Kondo M. A Prospective, randomized, open-label trial of early versus late Favipiravir therapy in hospitalized patients with COVID-19 // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2020. – Vol. 64, No.12. – e01897-20. DOI: 10.1128/AAC.01897-20.
 17. Gao Y., Yan L., Huang Y., Liu F., Zhao Y., Cao L., Wang T., Sun Q., Ming Z., Zhang L., Ge J., Zheng L., Zhang Y., Wang H., Zhu Y., Zhu C., Hu T., Hua T., Zhang B., Yang X., Li J., Yang H., Liu Z., Xu W., Guddat L.W., Wang Q., Lou Z., Rao Z. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus // *Science*. – 2020. – Vol. 368, No.6492. – P. 779–782. DOI: 10.1126/science.abb7498.
 18. Shiraki K., Daikoku T. Favipiravir, an anti-influenza drug against life-threatening RNA virus infections // *Pharmacol. Ther.* – 2020. – Vol. 209. – Art. No.107512. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107512.
 19. Furuta Y., Komeno T., Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci.* – 2017. – Vol. 93, No.7. – P. 449–463. DOI: 10.2183/pjab.93.027.
 20. Delang L., Abdelnabi R., Neyts J. Favipiravir as a potential countermeasure against neglected and emerging RNA viruses // *Antiviral. Res.* – 2018. – Vol. 153. – P. 85–94. DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.03.003.
 21. Udwardiaa Z.F., Singh P., Barkateb H., Patilb S., Rangwalab S., Pendseb A., Kadamb J., Wuc W., Caractad C.F., Tandonb M. Efficacy and safety of favipiravir, an oral RNA-dependent RNA polymerase inhibitor, in mild-to-moderate COVID-19: A randomized, comparative, open-label, multicenter, phase 3 clinical trial // *Intern. J. Inf. Diseases.* – 2021. – No.103. – P. 62–71. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.11.142.
 22. Radaeva O.A., Simbirtsev A.S., Kostina J.A. The change in the circadian rhythm of macrophage colony-stimulating factor content in the blood of patients with essential hypertension // *Cytokine X*. – 2019. – Vol. 1, No.3. – Art. No.100010. DOI: 10.1016/j.cyttox.2019.100010.
 23. Yağcı S., Serin E., Acicbe Ö., Zeren M.İ., Odabaşı M.S. The relationship between serum erythropoietin, hepcidin, and haptoglobin levels with disease severity and other

- biochemical values in patients with COVID-19 // *Int. J. Lab. Hematol.* – 2021. – Vol. 43, Suppl. 1. – P. 142–151. DOI: 10.1111/ijlh.13479.
24. Johnson C.S., Cook C.A., Furmanski P. *In vivo* suppression of erythropoiesis by tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha): reversal with exogenous erythropoietin (EPO) // *Exp. Hematol.* – 1990. – Vol. 18, No.2. – P. 109–113.
 25. Kassir R. Risk of COVID-19 for patients with obesity // *Obes. Rev.* – 2020. – Vol. 21, No.6. – e13034. DOI: 10.1111/obr.13034.
 26. Жирнов О.П., Чернышова А.И. Фавипиравир: скрытая опасность мутагенного действия // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* – 2021. – Т. 98, №2. – С. 213–220. DOI: 10.36233/0372-9311-114.
 27. Tam D.N.T., Qarawi T.A., Luu N.M., Turnage M., Tran L., Tawfik G.M., Le H.N.M., Nguyen T.H., Tatsuo I., Kyoshi K., Kenji H. Favipiravir and its potentials in COVID-19 pandemic: An update // *Asian Pac. J. Trop. Med.* – 2021. – Vol. 14, No.10. – P. 433–439. DOI: 10.4103/1995-7645.329005.
 28. Kocayigit H., Özmen Süner K., Tomak Y., Gürkan D., Selçuk Y., Hamad D., Ertugrul G., Ali Fuat E. Observational study of the effects of Favipiravir vs Lopinavir/Ritonavir on clinical outcomes in critically ill patients with COVID-19 // *J. Clin. Pharm. Ther.* – 2021. – Vol. 46, No.2. – P. 454–459. DOI: 10.1111/jcpt.13305.
 29. Tsang H.F., Chan L.W.C., Cho W.C.S., Yu A.C.S., Yim A.K.Y., Chan A.K.C., Ng L.P.W., Wong Y.K.E., Pei X.M., Li M.J.W., Wong S.C. An update on COVID-19 pandemic: the epidemiology, pathogenesis, prevention and treatment strategies // *Expert. Rev. Ant. Infect. Ther.* – 2021. – Vol. 19, No.7. – P. 877–888. DOI: 10.1080/14787210.2021.1863146.
 30. Udawadia Z.F., Singh P., Barkate H., Patil S., Rangwala S., Pendse A., Kadam J., Wu W., Caracta C.F., Tandon M. Efficacy and safety of favipiravir, an oral RNA-dependent RNA polymerase inhibitor, in mild-to-moderate COVID-19: A randomized, comparative, open-label, multicenter, phase 3 clinical trial // *Int. J. Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 103. – P. 62–71. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.11.142.
 31. Vankadari N. Arbidol: A potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2 by blocking trimerization of the spike glycoprotein // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2020. – Vol. 56, No.2. – Art. No.105998. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105998.

АВТОРЫ

Балыкова Лариса Александровна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой педиатрии, директор Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-2290-0013. E-mail: larisabalikova@yandex.ru

Радаева Ольга Александровна – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинский институт ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0003-1383-2474. E-mail: radaevamed@mail.ru

Заславская Кира Яковлевна – директор по новым продуктам ООО «Промомед ДМ». ORCID ID: 0000-0002-7348-9412. E-mail: kiryonok@yandex.ru

Костина Юлия Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0003-1383-2474. E-mail: bazunova.2013@mail.ru

Искандярова Мария Сергеевна – ассистент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П.

Огарева». ORCID ID: 0000-0001-9465-7668. E-mail: iskandiarova.m@yandex.ru

Негоднова Елена Валерьевна – ассистент кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-1581-618X. E-mail: el.negodnova@gmail.com

Еремеев Виталий Викторович – аспирант кафедры иммунологии, микробиологии и вирусологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии Медицинского института ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0002-2293-1987. E-mail: vital.eremeev2010@mail.ru

Сабиров Ленар Фаратович – заместитель Руководителя Администрации Главы Республики Мордовия и Правительства Республики Мордовия, Россия. ORCID ID: 0000-0001-8331-5523 E-mail: lenar.sabirov.79@mail.ru

Семелева Елена Владимировна – доктор медицинских наук, доцент, и.о. заведующего кафедрой общественного здоровья и организации здравоохранения с курсом гигиены ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева». ORCID ID: 0000-0001-6692-4968. E-mail: shtanina37@mail.ru

УДК: 616-006.6



КЛИНИКО-ЭКОНОМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРОГРАММНОГО СКРИНИНГА КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА НА УРОВНЕ СУБЪЕКТА

Ю.Ю. Петухова^{1,2}, Е.В. Елисева¹, А.Г. Петухова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

690002, Россия, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения

«Приморский краевой онкологический диспансер»

690105, Россия, г. Владивосток, ул. Русская, 59

E-mail: juliapetukhovavl@mail.ru

Получена 01.06.2021

После рецензирования 20.11.2021

Принята к печати 24.11.2021

Цель. Оценить клиническую и экономическую эффективность результатов практической реализации программного скрининга колоректального рака (КРР) на территории Приморского края с использованием методов клинико-экономического исследования.

Материалы и методы. В исследовании использованы статистические сведения канцеррегистра краевого онкологического диспансера о структуре заболеваемости и средней продолжительности жизни больных КРР в Приморском крае; данные о стоимости скрининговых исследований и этапов противоопухолевой терапии в соответствии с «Территориальным тарифным соглашением по оплате медицинской помощи (медицинских услуг) в системе обязательного медицинского страхования на территории Приморского края», 2021. Применены два метода клинико-экономического анализа с соответствующими расчетными формулами. Затраты на медицинские вмешательства оценивались в соответствии со стандартами скрининга и клиническими рекомендациями по лечению злокачественных новообразований ободочной и прямой кишки, одобренными Научно-практическим Советом Минздрава РФ, 2020.

Результаты. Получено доказательное обоснование клинических эффектов скрининга: перераспределение структуры заболеваемости КРР в сторону преобладания ранних форм на 16,81%; среднее увеличение ожидаемой продолжительности жизни пациентов с изучаемым заболеванием на 12,8 мес. Закономерным следствием данных событий является прогнозируемое снижение уровня летальности от КРР на территории субъекта в последующие годы. Продemonстрирована экономическая целесообразность программного скрининга КРР, что гарантирует существенную экономию ресурсов здравоохранения, составляющую 23% по сравнению с альтернативной стратегией, и может повлиять на принятие управленческих решений по дальнейшей стратегии массового внедрения данной медицинской технологии.

Заключение. В настоящее время скрининг КРР является самым эффективным направлением в снижении показателей заболеваемости и смертности от данного заболевания. Преобладание диагностики ранних стадий заболевания экстраполируется в значимую экономию средств системы государственного здравоохранения. Перспективным направлением дальнейших исследований в области скрининга КРР является изучение его долговременных эффектов, в частности, детальный клинико-экономический анализ эффективности диагностики и элиминации предраковых новообразований.

Ключевые слова: колоректальный рак; скрининг; клинико-экономический анализ; заболеваемость; стоимость лечения; экономия ресурсов; специальная фармакотерапия; затраты; фармакотерапевтические вмешательства; эффективность

Список сокращений: КРР – колоректальный рак; IARC – Международное агентство по изучению рака; ASCO – Американское общество клинической онкологии; ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; FIT – фекальный иммунохимический тест; gFOBT – Гваяковая фекальная проба на скрытую кровь; ФКС – фиброколоноскопия; СМА – показатель разницы затрат; ЗНО – злокачественное новообразование; DC – прямые затраты; CER – показатель «затраты-эффективность»; Ef – эффективность; КСГ – клинико-статистическая группа; ОМС – обязательное медицинское страхование; ПГП – порог готовности платить; LYG – сохраненный год жизни; QALYS – скорректированный на качество сохраненный год жизни; ВВП – валовой внутренний продукт; ЦАМИ – Централизованный архив медицинских изображений.

Для цитирования: Ю.Ю. Петухова, Е.В. Елисева, А.Г. Петухова. Клинико-экономическое обоснование целесообразности программного скрининга колоректального рака на уровне субъекта. *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):465-475. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-465-475

© Ю.Ю. Петухова, Е.В. Елисева, А.Г. Петухова, 2021

For citation: Yu.Yu. Petukhova, E.V. Eliseeva, A.G. Petukhova. Clinical and economic justification of software screening performance of colorectal cancer at the region level. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):465-475. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-465-475

CLINICAL AND ECONOMIC JUSTIFICATION OF SOFTWARE SCREENING PERFORMANCE OF COLORECTAL CANCER AT THE REGION LEVEL

Yu.Yu. Petukhova^{1,2}, E.V. Eliseeva¹, A.G. Petukhova¹

¹ Pacific State Medical University,
2, Ostryakov Ave., Vladivostok, Russia 690002

² Primorsky Regional Oncological Dispensary
59, Russkaya Str., Vladivostok, Russia, 690105

E-mail: juliapetukhovavl@mail.ru

Received 01 Juny 2021

After peer review 20 Nov 2021

Accepted 24 Nov 2021

The aim of the study is to assess the clinical and economic effectiveness of the practical implementation results of programmed screening for colorectal cancer (CRC) in the Primorsky Territory using clinical and economic research methods.

Materials and methods. In the study, the following kinds of data were used: the statistical data from the regional clinic's cancer registry on the structure of the morbidity and average life expectancy of CRC patients in the Primorsky Territory; the data on the cost of screening studies and the stages of anticancer therapy in accordance with the "Territorial Tariff Agreement on Payment for Medical Care (Medical Services) in the System of Compulsory Health Insurance in the Territory of Primorsky Krai", 2021. Two methods of clinical and economic analysis with the corresponding calculation formulas have been applied. The cost of medical interventions were estimated in accordance with the screening standards and clinical guidelines for the treatment of malignant neoplasms of the colon and rectum, approved by the Scientific and Practical Council of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2020.

Results. The evidence-based substantiation of screening clinical effects has been obtained: the structure redistribution of colorectal cancer incidence towards the prevalence of early forms by 16.81%; the average increase in the life expectancy of patients with the studied disease is 12.8 months. A natural consequence of these events is the predicted decrease in the mortality rate from CRC in the territory of the subject in the subsequent years. The economic justification of CRC screening software which guarantees a significant saving in health care resources amounting to 23% compared to an alternative strategy, has been demonstrated. It can influence the management decisions on the further strategy of the mass introduction of this medical technology.

Conclusion. Currently, CRC screening is the most effective way to reduce morbidity and mortality from this disease. The predominance of the early diagnosis of the disease is extrapolated to significant savings in public health care. A promising direction for further research in the field of CRC screening is the study of its long-term effects, in particular, a detailed clinical and economic analysis of the diagnostics effectiveness and the elimination of premalignant neoplasms.

Keywords: colorectal cancer; screening; clinical and economic analysis; morbidity; cost of treatment; resource saving; special pharmacotherapy; cost; pharmacotherapeutic interventions; effectiveness

Abbreviations: CRC – colorectal cancer; IARC – International Agency for Research on Cancer; ASCO – American Society of Clinical Oncology; WHO – World Health Organization; FIT – fecal immunochemical test; gFOBT – Guaiac fecal occult blood test; FCS – fibrocolonoscopy; CDI – cost difference indicator; CMA – cost/minimization analysis MN – malignant neoplasm; DC – direct cost; CER – cost-effectiveness ratio; Ef – effectiveness; DRG – Diagnosis-Related Group; CHIS – Compulsory Health Insurance System; WPT – willingness-to-pay threshold; LYS – life year saved; QALYS – quality-adjusted life-year saved; GDP – gross domestic product; CSAMIs – Central Storage Archive of Medical Images.

ВВЕДЕНИЕ

Колоректальный рак (КРР) является одним из наиболее часто диагностируемых видов злокачественных опухолей во всем мире. Согласно информации, предоставляемой Международным агентством по изучению рака (IARC, International Agency for Research on Cancer¹) среди мужчин с онкологическими заболеваниями КРР занимает третье место по распространенности после рака легких и предстательной железы (10,6% или 1065960 случаев в 2020 г). Среди женщин с онкологическими заболеваниями КРР занимает второе место по распространенности после рака молочной железы (9,4% или 865630 случаев в 2020 г.) [1]. По сведениям Глобальной онкологиче-

ской обсерватории (GCO, Global Cancer Observatory²), ожидается, что глобальное бремя КРР увеличится на 60% (более 2,2 млн новых случаев и 1,1 млн смертей) к 2030 году [2]. Заболеваемость и смертность от КРР демонстрируют широкие географические различия по всему миру: самые высокие показатели фиксируются в Австралии и Новой Зеландии, самые низкие – в Западной Африке [3]. В России в 2019 году³ колоректальный рак (КРР) занял четвертое место в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями. Большинство заболевших составляют

¹ The World Health Organization (WHO). International Agency for Research on Cancer, IARC. Available from: <https://www.iarc.fr/>.

² Global Cancer Observatory, (GCO). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gco.iarc.fr/>.

³ Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. – 2020. – 239 с.

лица в возрасте 50 лет и старше, но, по прогнозам ASCO⁴ 12% случаев КРР будут диагностированы у людей моложе 50 лет [4]. При этом ранняя диагностика обеспечивает 50–60%-ную 5-летнюю выживаемость, в то время как при IV стадии она составляет менее 10% [5, 6].

Многоступенчатая теория канцерогенеза толстой кишки объясняет развитие карциномы через стадию аденомы [7–9]. В зависимости от пути эволюции злокачественной опухоли кишечника [10], ее манифестация может реализоваться от 4–5 до 20 лет после возникновения [11, 12]. Этим подтверждается длительное бессимптомное течение данного заболевания с отсутствием активных жалоб у пациента [5]. Таким образом, своевременная диагностика и удаление аденом ободочной и прямой кишки являются приоритетной задачей для снижения не только летальности, но и заболеваемости КРР [3, 13, 14].

Существуют две наиболее эффективные стратегии скрининга КРР [15, 16]. Во-первых, проведение колоноскопии с кратностью 1 раз в 10 лет, которая обеспечивает самые высокие долгосрочные клинические результаты и является наименее дорогостоящей. Во-вторых, ежегодное иммунохимическое исследование кала на наличие крови (FIT) [17]. Эта стратегия считается лучшим, а также наиболее экономически эффективным вариантом скрининга при пороге готовности платить более €15000 за каждый приобретенный год жизни [18]. В настоящее время обобщенный 2-этапный стандарт скрининга КРР представляет собой обследование лиц от 50 до 75 лет. Первый этап – это лабораторное определение скрытой крови в каловых массах (гемокульт-тест, gFOBT, или, предпочтительнее, иммунохимический метод – FIT). Второй этап – фиброколоноскопия (ФКС) [13, 19, 20].

В контексте возрастных ограничений скрининга КРР следует отметить, что, в отличие от снижения заболеваемости колоректальным раком среди пожилых людей, с начала 1990-х годов данный показатель почти удвоился среди молодых людей [21]. Это люди моложе 50 лет, которые не соответствуют рекомендациям по скринингу [4, 22]. С другой стороны, доказано, что эндоскопическая резекция полипов толстой кишки безопасна даже для пожилых пациентов 80 лет и старше [23]. В связи с этим оптимальный возраст для скрининга КРР уже сегодня подвергается пересмотру [21]. С учетом растущего экономического бремени КРР, затрат на проведение программного скрининга и экономических эффектов от его внедрения, рядом экспертов был предложен возраст 32 года в качестве минимального порога для проведения скрининговых исследований [24].

ЦЕЛЬ. Оценить клиническую и экономическую эффективность результатов практической реализации программного скрининга КРР на территории Приморского края с использованием методов клинико-экономического исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование проводилось в плоскости диагностики и лечения КРР на территории Приморского края в качестве ретроспективного анализа данных 2016–2018 гг. Выбор периода связан с тем, что: в 2016 г. скрининг КРР в крае не проводился; в 2017 г. началось постепенное внедрение скрининга, не имеющее тогда нормативной основы; в 2018 г., в соответствии с Приказом территориального органа управления здравоохранением⁵ началась реализация программного скрининга КРР. Практический фундамент исследования, реализованного в конкретных пространственно-временных условиях, позволил исключить необходимость построения концептуальной модели начального этапа внедрения рассматриваемой медицинской технологии. Под КРР понимается совокупность злокачественных новообразований ободочной и прямой кишки, соответствующих кодам С18-21 МКБ-10⁶. Исследование основывается на двух методах клинико-экономического анализа: «минимизации затрат» (cost-minimisation analysis) и «затратной эффективности» (cost-effectiveness analysis)⁷ [25]. В первом случае рассчитывался показатель разницы затрат (СМА) по формуле:

$$CMA = DC1 - DC2,$$

где: DC1 – затраты при применении 1-го метода; DC2 – затраты при применении 2-го метода.

Во втором случае определялось соотношение «затраты/эффективность»:

$$CER = DC/Ef,$$

где: DC – затраты; Ef – эффективность (в данном исследовании единицей эффективности является месяц жизни после установления диагноза КРР).

Полученные в результате значения CER, соответствующие изучаемым периодам, были подвергнуты сравнению. Выявлен оптимальный (наименьший) показатель «затраты-эффективность».

С целью проведения данного дуплета взаимодополняющих клинико-экономических исследований определена средняя стоимость диагностики и ле-

⁵ Приказ от 13 ноября 2017 года № 977-о «О внедрении на территории Приморского края централизованного скрининга злокачественных новообразований» (с изменениями на 20 декабря 2019 года). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/446618102/>.

⁶ Международная классификация болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mkb-10.com/>.

⁷ ГОСТ Р 57525-2017. Клинико-экономические исследования. Общие требования. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://protect.gost.ru/v.aspx?control=8&baseC=6&page=2&month=7&year=2017&search=&RegNum=1&DocOnPageCount=15&id=210129&pageK=270D5A13-9BFF-4EE4-B026-A43786F3620F/>.

⁴ American Society of Clinical Oncology, (ASCO). [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.asco.org/>.

чения одного пациента с КРР в зависимости от стадии заболевания, а также средняя прогнозируемая продолжительность жизни этих категорий больных после определения диагноза. Полученные данные преобразованы в средние величины для каждого массива пациентов, выявленного в 2016, 2017 и 2018 гг., и использованы для выполнения соответствующих расчетов. Как результат применения перечисленных методов исследования, в работе осуществлен и представлен анализ «влияния на бюджет» от внедрения рассматриваемой лечебно-диагностической стратегии. Кроме клинико-экономических, использованы дополнительные методы исследования: статистический (сводка и группировка материалов статистического наблюдения) и социологический (сбор и анализ количественной документальной информации).

Используемые статистические сведения предоставлены базами канцеррегистра и отдела программного обеспечения Приморского краевого онкологического диспансера. Для получения и обработки необходимых в научно-исследовательской работе данных использовалось программное обеспечение Microsoft Office Excel 2007, а также медицинские информационные системы ДОКА+, Онкор и Централизованный архив медицинских изображений (ЦАМИ). Анализируемая стратегия лечения соответствует актуальным в настоящее время клиническим рекомендациям, одобренным Научно-практическим Советом Минздрава РФ⁸. При расчетах оценивались прямые затраты на медицинские вмешательства: скрининговые исследования и программу противоопухолевого лечения. Расходы учитывались в соответствии с действующим «Территориальным тарифным соглашением по оплате медицинской помощи (медицинских услуг) в системе обязательного медицинского страхования на территории Приморского края»⁹. Инфляционные ожидания не рассматривались.

Таким образом, при проведении анализа, устранено влияние меняющихся ценовых условий на медицинские вмешательства в течение периода, рассматриваемого в исследовании. В работе имеется допущение: пациенты с неизвестной стадией заболевания не учитывались (их доля среди выявленных больных в 2016 г. составила 5,4%, в 2017 г. – 5%, в 2018 г. – 2,8%). Клинико-экономические эффекты выявления предраковых заболеваний не были предме-

том данного исследования и не использовались для проведения соответствующих расчетов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В Приморье скрининг КРР начал проводиться в 2017 г. В то время он не имел нормативной основы и носил оппортунистический характер. Реализация централизованного скрининга КРР началась с 2018 г. после утверждения территориальным органом управления здравоохранением края соответствующего Приказа от 13 ноября 2017 года № 977-о «О внедрении на территории Приморского края централизованного скрининга злокачественных новообразований» (с изменениями на 20 декабря 2019 года)¹⁰.

Несмотря на отсутствие скрининговой программы, в 2017 г. было проведено 641 лабораторное исследование кала на скрытую кровь в качестве первого этапа скрининга КРР и последующая ФКС в объеме 104-х манипуляций. Ценовое выражение одного гемотеста равно 846 рублям/12\$¹¹, колоноскопии – 1283 рублям/\$18. Затраты на выполнение гемотестов составили 542286 рублей/7474\$, на проведение эндоскопических исследований – 133432 рубля/1839\$. В результате стоимость 2-этапного скрининга КРР в 2017 г. составила 675718 рублей/9313\$.

В 2018 г., как следствие внедрения централизованного скрининга КРР, было проведено 13245 лабораторных тестов на скрытую кровь. Второй, эндоскопический этап скрининга, был реализован проведением ФКС в количестве 1045. Затраты на выполнение гемотестов составили 11205270 рублей/154438\$, на проведение эндоскопических исследований – 1340735 рублей/18479\$. Общие затраты на скрининг КРР в 2018 г. составили 12546005 рублей/172916\$. Таким образом, ресурсозатратность скрининговых исследований с внедрением приказа об их плановой реализации возросла на 11870287 рублей/163603\$.

В 2016 г., при отсутствии скрининга КРР, было впервые диагностировано 687 случаев КРР. В 2017 г., при появлении скрининга, этот показатель составил 711, а в 2018 году, с внедрением централизованного скрининга – 769 случаев. Следовательно, с учетом представленных затрат, стоимость скрининга, соответствующая одному случаю впервые диагностированного КРР, в 2017 г. составила 950 рублей/13\$, в 2018 г. – 16315 рублей/225\$ или на 15364 рублей/212\$ больше, чем до реализации скрининговой программы (рис. 3). Изменение структуры выявленных в 2016–2018 гг. случаев КРР представлено в таблице 1.

⁸ Клинические рекомендации. Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела 2020 // Ассоциация онкологов России. Российское общество клинической онкологии. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://oncology-association.ru/files/clinical-guidelines-2020/zno_obodochnoj_kishki.pdf/.

⁹ Территориальное тарифное соглашение по оплате медицинской помощи (медицинских услуг) в системе ОМС на территории Приморского края на 2021 год. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://omspk.ru/upload/iblock/701/ТТС%20на%202021%20год%20\(на%20сайт\).doc/](http://omspk.ru/upload/iblock/701/ТТС%20на%202021%20год%20(на%20сайт).doc/).

¹⁰ Приказ от 13 ноября 2017 года N 977-о «О внедрении на территории Приморского края централизованного скрининга злокачественных новообразований» (с изменениями на 20 декабря 2019 года).

¹¹ 72,6022 RUB (рублей) за 1 USD (доллар США) – курс ЦБ РФ на 19.11.2021 г.

Таблица 1 – Структура заболеваемости КРР в 2016–2018 гг.

Локализация КРР	Стадия заболевания	2016 год		2017 год		2018 год	
		Число случаев	%	Число случаев	%	Число случаев	%
ЗНО ободочной кишки	I	46	11,7	70	17,24	98	21,8
	II	85	21,7	129	31,78	132	29,4
	III	94	24	88	21,67	102	22,7
	IV	167	42,6	119	29,31	117	26,1
	Всего	392	100	406	100	449	100
ЗНО прямой кишки	I	24	8,1	40	13,11	45	14,06
	II	61	20,7	95	31,15	96	30
	III	84	28,5	80	26,23	89	27,81
	IV	126	42,7	90	29,51	90	28,13
	Всего	295	100	305	100	320	100
Общее количество случаев КРР	I	70	10,19	110	15,47	143	18,6
	II	146	21,25	224	31,5	228	29,65
	III	178	25,91	168	23,63	191	24,84
	IV	293	42,65	209	29,4	207	26,91
	Всего	687	100	711	100	769	100

Таблица 2 – Прогнозируемая продолжительность жизни больных КРР в зависимости от стадии заболевания

Стадия КРР	Средняя продолжительность жизни пациентов, мес.	Весовой коэффициент численности контингента и соответствующая ему средневзвешенная продолжительность жизни, мес.					
		2016 год		2017 год		2018 год	
I	99	0,102	10,1	0,156	15,4	0,186	18,4
II	83	0,213	17,7	0,315	26,1	0,297	24,7
III	35	0,259	9,1	0,236	8,3	0,248	8,7
IV	13	0,427	5,6	0,294	3,8	0,269	3,5

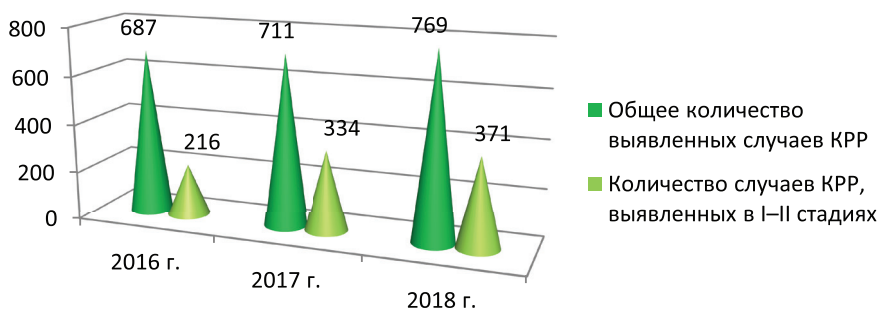


Рисунок 1 – Прирост диагностированных случаев КРР и числа больных, выявленных в I–II стадиях заболевания в 2016–2018 гг.

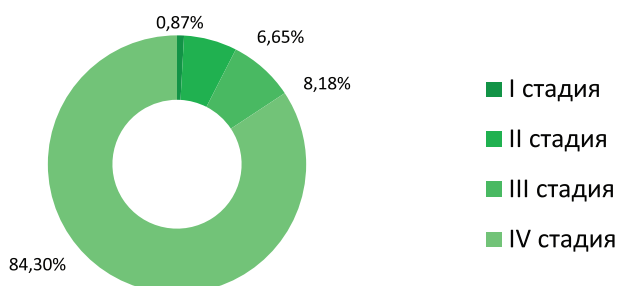


Рисунок 2 – Затраты на лечение КРР в зависимости от стадии заболевания в 2016 г.

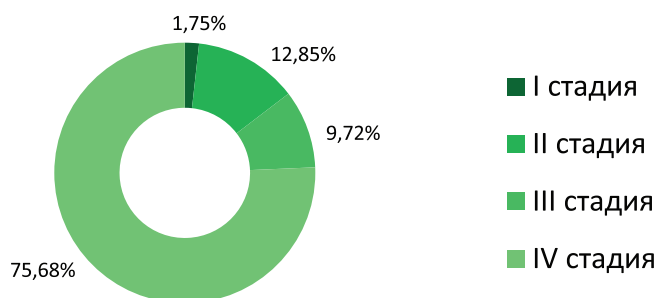


Рисунок 3 – Затраты на лечение ККР в зависимости от стадии заболевания в 2017 г.

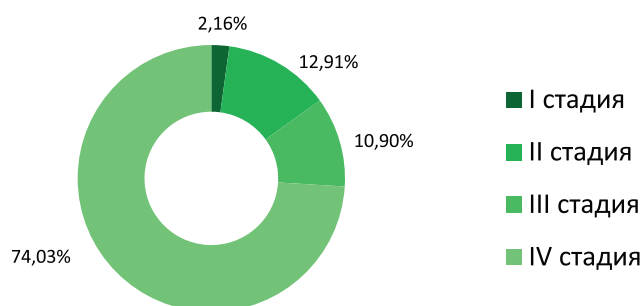


Рисунок 4 – Затраты на лечение ККР в зависимости от стадии заболевания в 2018 г.



Рисунок 5 – Затраты на диагностику и лечение 1-го больного ККР и показатель разницы затрат в 2016–2018 гг.

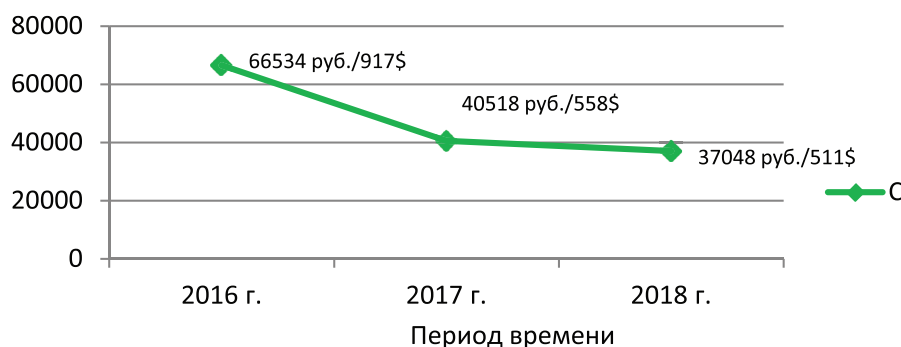


Рисунок 6 – Изменение показателя «затраты-эффективность» (CER) в 2016–2018 гг.

Как продемонстрировано, с внедрением скрининга улучшилась диагностика ККР, что выразилось в приросте впервые диагностированных случаев заболевания, а также в увеличении числа больных, выявленных в I–II стадиях (рис. 1).

Согласно клиническим рекомендациям, одоб-

ренным Научно-практическим Советом Минздрава РФ¹² и Национальному руководству по лекарственно-

¹² Клинические рекомендации. Злокачественные новообразования ободочной кишки и ректосигмоидного отдела 2020 // Ассоциация онкологов России. Российское общество клинической онкологии. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://oncology-association.ru/files/clinical-guidelines-2020/zno_obodochnoj_kishki.pdf/

му лечению злокачественных опухолей¹³, в зависимости от стадии заболевания, при лечении КРР должны быть применены следующие опции: I стадия – хирургическое лечение; II и III стадии – оперативное лечение с последующей адъювантной лекарственной терапией XELOX или FOLFOX до 6 мес.; V стадия, а также прогрессирование заболевания – последовательно назначаемые линии специальной фармакотерапии (комбинированные и самостоятельные режимы цитостатических и целевых агентов). При локализации процесса в прямой кишке программа лечения, как правило, включает радиотерапию или ее сочетание с фармакотерапевтическим компонентом.

Применив Расшифровку клинико-статистических групп (КСГ)¹⁴ для медицинской помощи и Территориальное тарифное соглашение по оплате медицинской помощи (медицинских услуг) в системе ОМС на территории Приморского края на 2021 год, мы рассчитали стоимость лечения случая КРР в зависимости от стадии заболевания. Так стоимость лечения больного в I стадии опухолевого процесса составила 187718 рублей/2587\$; во II и III стадиях – 819830 рублей/11299\$. Химиолучевая терапия в составе программы лечения рака прямой кишки добавляет к ее стоимости 154488 рублей/2129\$. IV стадия, как и прогрессирование заболевания, требует применения самой дорогостоящей опции лечения – паллиативной, в том числе, молекулярно-целевой фармакотерапии. С учетом средней длительности ее применения в 9–11 месяцев, затраты на лечение одного больного составляют от 2015680/27781\$ до 9163500 рублей/126297\$, что в среднем равно сумме в 5589590 рублей/77039\$. Зная приведенную выше численную структуру КРР, выявленного в 2016–2018 гг., мы подсчитали бюджет лечения контингента больных I, II, III и IV стадий.

Затраты на лечение КРР в 2016 г. (рис. 2): I стадия – 16847972 рубля/232209\$ (0,87%), II стадия – 129118948 рублей/1779594\$ (6,65%), III стадия – 158906732 рубля/2190146\$ (8,18%), IV стадия – 1637749870 рублей/22572436\$ (84,3%). Общие затраты на лечение больных КРР в 2016 г. составили 1942623522 рубля/26774385\$. Средняя стоимость лечения 1-го больного – 2827691 рубль/38973\$.

Затраты на лечение КРР в 2017 г. (рис. 3): I стадия – 26828500 рублей/369766\$ (1,75%), II стадия – 198318280 рублей/2733340\$ (12,85%), III стадия – 150090480/2068636\$ (9,72%), IV стадия –

1168224310 рублей/16101157\$ (75,68%). Общие затраты на лечение больных КРР в 2017 г. составили 1543461570 рублей/21272899\$. Средняя стоимость лечения 1-го больного – 2170832 рубля/29920\$.

Затраты на лечение КРР в 2018 г. (рис. 4): I стадия – 33795634 рубля/465791\$ (2,16%), II стадия – 201752088 рублей/2780666\$ (12,91%), III стадия – 170336962 рубля/2347685\$ (10,9%), IV стадия – 1157045130 рублей/15947079\$ (74,03%). Общие затраты на лечение больных КРР в 2018 г. составили 1562929814 рублей/21541222\$. Средняя стоимость лечения 1-го больного – 2032418 рублей/28012\$.

Таким образом, с появлением скрининга в 2017 г. средняя стоимость лечения 1-го больного снизилась на 656859 рублей/9053\$, а с внедрением программного скрининга в 2018 г. – на 795273 рубля/10961\$, по сравнению с 2016 г. Приняв во внимание, что при этом затраты на диагностику КРР увеличились всего на 950 рублей/13\$ в 2017 г. и еще на 15364 рублей/212\$ в 2018 г., мы получаем очевидную экономию ресурсов здравоохранения. Мы обосновали наши выводы, применив один из основных методов клинико-экономического исследования – анализ «минимизации затрат». Сумма затрат на диагностику и лечение 1-го больного КРР при отсутствии скрининга (2016 г.) составила в среднем 2827691 рубль/38973\$, при появлении скрининга (2017 г.) – 2171782 рубля/29933\$, в первый же год реализации программы (2018 г.) – 2048733 рубля/28236,85\$. В соответствии с формулой расчета показателя разницы затрат при сравнении расходов 2016 и 2017 гг., его значение составило 655909 рублей/9040\$, а при сравнении расходов 2016 и 2018 гг. – 778958 рублей/10736\$. Представленные расчеты убедительно демонстрируют экономию денежных средств относительно каждого случая КРР при использовании скрининга (рис. 5).

Для получения более убедительных доказательств экономической целесообразности программного скрининга нами применен также анализ «затраты-эффективность», как наиболее объективный из методов клинико-экономического исследования. С этой целью использованы сведения канцеррегистра о средней продолжительности жизни контингентов больных КРР после взятия на учет в зависимости от стадии заболевания. С учетом численности и структуры случаев КРР, мы рассчитали среднюю прогнозируемую продолжительность жизни пациентов, выявленных в 2016, 2017 и 2018 гг. Соответствующие расчетные данные представлены в таблице 2.

Таким образом, средняя прогнозируемая продолжительность жизни больных КРР, выявленных в 2016 г. – 42,5 мес. (3,5 года), в 2017 г. – 53,6 мес. (4,5 года), в 2018 г. – 55,3 мес. (4,6 года). Применив формулу для расчета показателя «затраты-эффективность», в числитель мы поместили средние затраты на диагностику и лечение 1-го больного, в знамена-

¹³ Феденко А.А., Трякин А.А., Жукова Л.Г., Зейналова П.А., Моисеенко Ф.В., Строяковский Д.Л., Смолин А.В. и др. Национальное руководство по лекарственному лечению злокачественных опухолей / Под редакцией Каприна А.Д. – М., 2020. – 408 с.

¹⁴ Расшифровка клинико-статистических групп (КСГ) для медицинской помощи // Совместное письмо Министерства здравоохранения РФ № 11-7/И/2-20621, Федерального фонда ОМС № 00-10-26-2-04/11-51 от 30.12.2020 года, «О методических рекомендациях по способам оплаты медицинской помощи за счёт средств ОМС на 2021 год». [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://oms.spk.ru/upload/iblock/a02/Расшифровка%20групп%20КСГ%202021.xlsx/>.

тель среднюю прогнозируемую продолжительность жизни больных КРР, мес. Рассчитанный нами CER в 2016 г. составил 66534 рубля/917\$, в 2017 г. – 40518 рублей/558\$, в 2018 г. – 37048 рублей/511\$. Оптимальным считается наименьшее значение данного показателя, соответствующее в нашем исследовании стратегии программного скрининга (рис. 6).

Полученные результаты позволяют выполнить анализ «влияния медицинской технологии на бюджет». Затраты на обеспечение медицинской помощью больных КРР в 2016г составили 1942623522 рубля/26774385\$ (стоимость специализированного лечения), в 2018 г. – 1575475819 рублей/21634376\$ (стоимость скрининга и специализированного лечения). Снижение ресурсозатратности лечебно-диагностического процесса всего массива КРР, выявленного в 2018 г. в Приморском крае, составила 367147703 рубля/5140009\$. Таким образом, внедрение программного скрининга КРР обеспечивает экономию финансового обеспечения медицинской помощи по поводу изучаемого заболевания на 23%, по сравнению с альтернативной лечебно-диагностической стратегией.

ОБСУЖДЕНИЕ

Скрининг рака, согласно принципам ВОЗ, направлен на раннее выявление заболевания или предшествующих ему состояний [19]. Централизованный скрининг КРР в настоящее время активно применяется в большинстве европейских стран, Канаде, отдельных регионах Северной и Южной Америки, Азии и Океании. Нидерланды показали самый высокий уровень участия в программе (68,2%), а некоторые районы Канады – самый низкий (16%) [3].

Наблюдающееся в последнее десятилетие снижение смертности от КРР, являющееся по сути значимым клиническим достижением, объясняется, в первую очередь, скринингом (53%) и, лишь во вторую и третью, улучшением лечения (12%) и управляемым снижением влияния факторов риска КРР (35%) [4, 26]. Подсчитано, что увеличение распространенности скрининга КРР в ближайшие 2 года до 80% предотвратит 277000 случаев КРР, что составляет более 75% потенциального показателя заболеваемости и 203000 смертей к 2030 году [4, 27]. Реализация скрининговых программ КРР является редким примером эффективности в онкологической практике, уступая по своим клиническим результатам только скринингу рака шейки матки [5].

В то же время во всем мире уделяется все более пристальное внимание стоимости и ценности лечения онкологических заболеваний, среди которых КРР является нозологической единицей с лидирующей ресурсозатратностью. Именно с этим заболеванием ассоциированы самые высокие прямые затраты системы здравоохранения РФ (52 млрд рублей в год), приходящиеся, в основном, на проведение противо-

опухлевой фармакотерапии [28–30]. В рамках проекта РФ «Борьба с онкологическими заболеваниями»¹⁵ в период 2019–2024 гг. финансирование лекарственного обеспечения противоопухолевыми препаратами составит от 70 до 140 миллиардов рублей в год. Тем не менее, выбор стратегии медицинских вмешательств связан с пониманием ограниченного характера экономических ресурсов здравоохранения. Это диктует необходимость получения доказательств не только клинической, но и экономической целесообразности альтернативных медицинских технологий.

Такие профессиональные онкологические сообщества как ESMO, ASCO пытаются проанализировать экономическую эффективность различных лечебных и диагностических опций при КРР. Сложность поставленной задачи состоит в различной стоимости медицинских технологий в разных странах, что не позволяет экстраполировать данные об эффективности затрат из одной страны в другую [31]. Так, в Австралии стоимость одного года продления жизни больным КРР благодаря скрининговым программам, составляет 16632\$, в США – до 22000\$, в Европе – до 5000\$ [17, 19, 23]. Однако несомненная экономическая целесообразность скрининга КРР на данный момент не вызывает сомнений у специалистов США и большинства стран Европы [16].

Используя два основных метода клинко-экономического анализа, мы получили идентичные результаты, свидетельствующие о высокой клинической эффективности применения скрининга КРР. Представленные данные свидетельствуют о том, что даже оппортунистический скрининг (2017 г.), по сравнению с отказом от него, демонстрирует более оптимальную выявляемость заболевания, как в количественном, так и в структурном отношении, а также прогнозируемую продолжительность жизни больных КРР с момента установления диагноза. Численность пациентов с впервые диагностированным КРР в 2017 г. возросла на 3,49% (24 человека) по сравнению с 2016 г.; выявленных в I–II стадиях заболевания – на 15,53% (118 человек), средняя прогнозируемая продолжительность жизни больных – на 11,1 мес. Первый же год реализации скрининговой программы на территории субъекта усилил данные преимущества. Внедрение программного скрининга в 2018 г., по сравнению с его отсутствием в 2016 г., обеспечило прирост рассматриваемых показателей на 11,9% (82 человека), 16,81% (155 человек) и 12,8 мес. соответственно (ожидаемым следствием данных преимуществ станет закономерное снижение уровня летальности от КРР на территории края в последующие годы).

¹⁵ Приложение к протоколу заседания проектного комитета по национальному проекту «Здравоохранение». Паспорт федерального проекта «Борьба с онкологическими заболеваниями», 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://zdrav.tmbreg.ru/assets/files/Gosprogramm/nacionalnyy-proekt-zdravooxranenie/pasportafp/фпф-борьба-с-онкологическими-заболеваниями-14.12.2018.pdf>

Эти клинические эффекты экстраполируются в снижение расходов на дорогостоящие противоопухолевые фармакотерапевтические вмешательства, самыми высокочастотными среди которых являются паллиативные режимы лекарственной терапии, применяемые при лечении продвинутых стадий КРР [28–30]. Данное экономическое преимущество подтверждается выполнением аналитического расчета «влияния медицинской технологии на бюджет»: снижение уровня экономического бремени исследуемого заболевания на территории края в 2018 г. составило 23% (367147703 рубля/5140009\$) по сравнению с периодом, не вошедшим в программу скрининга. Таким образом, рассматриваемая медицинская технология значимо уменьшает экономическое бремя КРР, позволяя избежать избыточных затрат. Это согласуется с результатами скрининговых программ, проводимых в США и большинстве стран Европы. Для оценки экономической эффективности скрининга КРР и других стратегий профилактики в данных государствах используется ориентировочный порог готовности платить (ПГП) в размере 30000–50000\$ в зависимости от национальной политики в здравоохранении за сохраненный год жизни (LYG) или скорректированный на качество сохраненный год жизни (QALYS). Рассчитываемый показатель «затраты-эффективность» (CER) в среднем составляет 3380\$/LYG, что позволяет считать программный скрининг КРР эталоном экономической эффективности [19]. Многие страны, в том числе Российская Федерация, выполняют рекомендации ВОЗ, приняв за формальное пороговое значение готовности платить денежное выражение, равное 1–3 показателям уровня валового внутреннего продукта (ВВП) на душу населения. В применении к данному критерию, целевая реализация скрининга КРР также демонстрирует результаты высокоэффективного экономического вложения [17, 19, 23].

Опыт специалистов США сообщает также о существенных долговременных эффектах скрининга, в несколько раз превышающих соответствующие достижения на начальном этапе его внедрения [3, 13]. Так, за первоначальным ростом диагностики КРР через несколько лет после внедрения программы, наблюдается последовательное снижение заболеваемости КРР. При этом в структуре выявленного КРР частота случаев I–II стадий заболевания достигает 80%, III–IV стадий – не более 25% [4]. Наряду с ранним выявлением злокачественной патологии, не менее важным в программе скрининга КРР является аспект диагно-

стики предопухолевых неоплазий. В этой плоскости скрининг КРР, очевидно, имеет еще более широкий диапазон клинико-экономических результатов, так как элиминация потенциально злокачественных новообразований ободочной и прямой кишки позволяет уменьшить заболеваемость КРР по данным ряда экспертов на 20–90% [5, 8, 19]. Данные эффекты выражаются в увеличении продолжительности и улучшении качества жизни пациентов, а также в значительной экономии ресурсов здравоохранения и расходов населения. Это позволяет с уверенностью ожидать появления дальнейших доказательств снижения человеческих и материальных потерь благодаря пролонгации и массовому внедрению программного скрининга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ускорение прогресса в борьбе с КРР может быть достигнуто путем обеспечения доступа к высококачественному прецизионному медицинскому обслуживанию для всех пациентов и стимулирования более здорового образа жизни для предотвращения возникновения рака. Здоровое поведение, такое как достижение нормальной массы тела, физическая активность, отказ от чрезмерного употребления алкоголя или курения, может снизить риск развития КРР по крайней мере на треть. Однако клинико-экономические доказательства эффективности широкого скрининга констатируют, что еще большее число случаев КРР и смертей от этого заболевания можно было бы предотвратить с его помощью. Неуклонно возрастающее бремя онкологической патологии определяет восприятие медицинских вмешательств, направленных на профилактику и раннюю диагностику злокачественных новообразований, в качестве необходимой национальной стратегии. Для полноценной реализации всех возможностей программного скрининга КРР охват населения исследованиями должен приближаться к 80%. Принципами его применения должны стать универсальная доступность и целостность системы здравоохранения. В случае принятия соответствующих управленческих решений долгосрочная пролонгация данной технологии на территории каждого субъекта государства может стать частью практического воплощения Федерального проекта «Борьба с онкологическими заболеваниями» (2019–2024 гг.), экстраполируясь в реализацию его важнейшей задачи: снижение уровня смертности от онкологических заболеваний на 6% (не более 185 случаев на 100 тысяч человек) до 2024 года.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Ю.Ю. Петухова – планирование исследования, сбор и систематизация данных, проведение исследования, анализ и интерпретация полученных результатов, обзор литературных источников, написание рукописи, формирование списка литературы; Е.В. Елисеева – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации; А.Г. Петухова – участие в разработке концепции и дизайна исследования, статистическая обработка полученных результатов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Soerjomataram I., Bray F. Planning for tomorrow: global cancer incidence and the role of prevention 2020-2070 // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2021. – Vol. 18, No.10. – P. 663–672. DOI: 10.1038/s41571-021-00514-z.
- Arnold M., Sierra M.S., Laversanne M. et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality // *Gut.* – 2017. – Vol. 66, No.4. – P. 683–691. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310912.
- Navarro M., Nicolas A., Ferrandez A., Lanás A. Colorectal cancer screening programs worldwide in 2016: update // *World. J. Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, No.20. – P. 3632–3642. DOI: 10.3748/wjg.v23.i20.3632.
- Siegel R.L., Miller K.D., Sauer G.A., Fedewa S.A., Butterly L.F., Anderson J.C., Cercek A., Smith R.A., Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2017 // *C.A. Cancer. J. Clin.* – 2017. – Vol. 67, No.3. – P. 177–193. DOI: 10.3322/caac.21395.
- Нестеров П.В., Ухарский А.В., Кислов Н.В. Региональная клиничко-экономическая модель скрининга колоректального рака // *Исследования и практика в медицине.* – 2020. – Т. 7, № 3. – С. 146–159. DOI: 10.17709/2409-2231-2020-7-3-15.
- Brenner H., Jansen L., Ulrich A., Chang-Claude J., Hoffmeister M. Survival of patients with symptom- and screening-detected colorectal cancer // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, No.28. – P. 44695–44704. DOI: 10.18632/oncotarget.9412.
- Fearon E.R., Vogelstein B.A. A genetic model for colorectal tumorigenesis // *Cell.* – 1990. – Vol. 61, No.5. – P. 759–767. DOI: 10.1016/0092-8674(90)90186-i.
- De Palma F.D.E., D'Argenio V., Pol J., Kroemer G., Maiuri M.C., Salvatore F. Molecular features of the Dentate pathway in colorectal cancer // *Cancer (Basel).* – 2019. – Vol. 11, No.7. – Art. No. 1017. DOI: 10.3390/cancers11071017.
- Cross W., Kovac M., Mustonen V., Temko D., Davis H., Baker A.M., Biswas S., Arnold R., Chegwidan L., Gatenby C., Anderson A.R., Helzer V., Martinez P., Jiang X., Domingo E., Woodcock D.J., Feng Y., Kovakova M., Moen T., Jansen M., Rodriguez-Justo M., Ashraf S., Guy R., Cunningham C., East J.E., Kline D., Wang L.M., Palles C., Heinimann K., Sottoriva A., Leedham S.J., Graham T.A., Tomlinson I.P.M. The evolutionary landscape of colorectal oncogenesis // *Nat. Ecol. Evol.* – 2018. – Vol. 2, No.10. – P. 1661–1672. DOI: 10.1038/s41559-018-0642-3.
- Зобнина М.В., Карасев И.А., Черкес Л.В., Туманян А.О., Малихов А.Г., Малихова А.Г. Зубчатые образования толстой кишки: эндоскопическая диагностика, роль в колоректальном канцерогенезе // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2018. – Т. 4. – С. 4–11.
- Nguyen L.H., Goel A., Chung D.C. Pathways of Colorectal Carcinogenesis // *Gastroenterology.* – 2020. – Vol. 158, No.2. – P. 291–302. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.08.059.
- Lahouel K., Younes L., Danilova L., Giardiello F.M., Hruban R.H., Groopman J., Kinzler K.W., Vogelstein B., Geman D., Tomasetti C. Revision of the tumorigenesis timeline using a generative model based on data // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2020. – Vol. 117, No.2. – P. 857–864. DOI: 10.1073/pnas.1914589117.
- Полянская Е.А., Федянин М.Ю., Трякин А.А., Тюляндин С.А. Скрининг рака толстой кишки: достижения и перспективы // *Онкологическая колопроктология.* – 2018. – Т. 4, № 8. – С. 11–29. DOI: 10.17650/2220-3478-2018-8-4-11-29.
- Халин К.Д., Агапов М.Ю., Зверева Л.В. Диагностическая ценность предоперационной биопсии в дифференциальной диагностике эпителиальных образований толстой кишки // *Тихоокеанский медицинский журнал.* – 2018. – Т. 1. – С. 41–43. DOI: http://dx.doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.1.41-43.
- Issa I.A., Nouredin M. Colorectal Cancer Screening: an updated overview of available treatment options // *World J Gastroenterol.* – 2017. – Vol. 23, No.28. – P. 5086–5096. DOI: 10.3748/wjg.v23.i28.5086.
- Simon K., Balchen V. The development of colorectal cancer and success in screening // *Clinical Aging.* – 2016. – Vol. 11. – P. 967–976. DOI: 10.2147/CIA.S109285.
- Buskermolen M., Cenin D.R., Helsing L.M., Guyatt G., Haug U., Vandvik P.O., Bretthauer M., Lansdorp-Vogelaar I. Colorectal cancer screening with fecal immunochemical testing, sigmoidoscopy, or colonoscopy: a microsimulation simulation study // *BMJ.* – 2019. – Vol. 2, No.367. – Art No. 5383. DOI: 10.1136/bmj.l5383.
- Jahn B., Sroczynski G., Bundo M., Muhlberger N., Puntschner S., Todorovic J., Rochau U., Oberaigner W., Koffijberg H., Fischer T., Schiller-Fruehwirth I., Ofner D., Renner F., Jonas M., Hackl M., Ferlitsch M., Siebert U. Effectiveness, benefit harm and cost effectiveness of colorectal cancer screening in Austria // *BMC Gastroenterology.* – 2019. – Vol. 19. – P. 209–215. DOI: 10.1186/s12876-019-1121-y.
- Lew G.B., Feletto E., Wade S., Caruana M., Kang Y.J., Nixon C., Simms S., Pietro Procopio K.T., Taylor N., Worthington J., Smith D., Canfell K. Benefits, harms, and cost-effectiveness of cancer screening in Australia: a review of modelling estimates // *Public Health Res Practice.* – 2019. – Vol. 29, No.2. – P. 2912–291. DOI: http://dx.doi.org/10.17061/phrp2921913.
- Пузанов Д.П., Половинкин В.В., Пузанова И.А. Скрининг колоректального рака. Обзор существующих методов и рекомендаций // *Инновационная медицина Кубани.* – 2018. – Т. 1, № 9. – С. 58–64.
- Stoffel E.M., Murphy C.S. Epidemiology and mechanisms of the increase in the incidence of colon and rectal cancer in young people // *Gastroenterology.* – 2020. – Vol. 158, No.2. – P. 341–353. DOI: http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2019.07.055.
- Kasi P.M., Shahjehan F., Cochuyt J.J., Li Z., Colibaseanu D.T., Merchea A. Rising Proportion of Young Individuals With Rectal and Colon Cancer // *Clin. Colorectal. Cancer.* – 2019. – Vol. 18, No.1. – P. 87–95. DOI: 10.1016/j.clcc.2018.10.002.

23. Skouras T., Bond A., Galia A., Bonnett L., Lim M.J., Sarkar S. Outcomes and adverse factors of endoscopic mucosal resection (Emr) of colorectal polyps in elderly patients // *Frontline Gastroenterol.* – 2020. – Vol. 12, No.2. – P. 95–101. DOI: 10.1136/flgastro-2019-101294.
24. Peters E.F.P., Meister R.G.S., Siegel R.L., Chen J.S., Dwyer A., Ahnen D.J., Smith R.A., Sauber A.G., Lansdorp-Vogelaar I. The effect of increased colorectal cancer incidence in young adults on the optimal age to start screening: a Microsimulation Analysis I to inform the American Cancer Society's Colorectal Cancer Screening Guidelines // *Cancer.* – 2018. – Vol. 124, No.14. – P. 2964–2973. DOI: 10.1002/cncr.31543.
25. Ягудина Р.И., Серпик В.Г., Бабий В.В., Угрехелидзе Д.Т. Критерии эффективности в фармакоэкономическом анализе // *Фармакоэкономика: теория и практика.* – 2017. – Т. 5, № 3. – С. 5–10. DOI: 10.30809/phe.3.2017.7.
26. Keum N.N., Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: new trends, risk factors and prevention strategies // *Nat. Rev. Gastroenterol.* – 2019. – Vol. 16, No.12. – P. 713–732. DOI: 10.1038/s41575-019-0189-8.
27. Десятов Е.Н., Алиев Ф.Ш., Зуев В.Ю., Кирьянова А.С., Кузнецов В.Ю., Щепкин К.В. Колоректальный скрининг. Первые результаты // *Онкологическая колопроктология.* – 2017. – Т. 4, № 7. – С. 31–37. DOI: 10.17650/2220-3478-2017-7-4-31-37.
28. Авксентьева М.В., Горкавенко Ф.В., Никитина А.В., Савилова А.Г., Герасимова К.В., Мусина Н.З., Омеляновский В.В. Оценка социально-экономического бремени рака легкого в Российской Федерации // *Медицинские технологии. Оценка и выбор.* – 2018. – Т. 4. – С. 63–75. DOI: 10.31556/2219-0678.2018.34.4.063-075.
29. Баланова Ю.А., Драпкина О.М., Концевая А.В., Муканеева Д.К., Мырзаматова А.О., Худяков М.Б. Экономический ущерб онкологических заболеваний, ассоциированных с модифицируемыми факторами риска // *Анализ риска в организации здравоохранения.* – 2020. – Т. 1. – С. 133–141.
30. Грецова О.П., Деркач Е.В., Домбровский В.В., Игнатова В.И., Омеляновский В.В., Стенина М.Б. Социально-экономическое бремя рака молочной железы в РФ // *Медицинские технологии. Оценка и выбор.* – 2016. – Т. 4. – С. 32–49.
31. Goldstein D.A., Chen Q.S., Iyer T., Chan K.K.W., Virik K., Hammerman A., Brenner B., Flowers C.R., Hall P.S. Bevacizumab for metastatic colorectal cancer: a global cost-effectiveness analysis. *Oncologist.* – 2017. – Vol. 22, No.6. – P. 694–699. DOI: 10.1634/theoncologist.2016-0455.

АВТОРЫ

Петухова Юлия Юрьевна – аспирант 3-го года обучения ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России; заместитель главного врача по лечебной работе ГБУЗ «Приморский краевой онкологический диспансер». ORCID ID: 0000-0002-0724-9736. E-mail: juliapetukhovavl@mail.ru

Елисеева Екатерина Валерьевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой об-

щей и клинической фармакологии, проректор ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6126-1253. E-mail: eliseeva@tgmu.ru

Петухова Антонина Глебовна – студент 5-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0387-098X. E-mail: petukhova_antoninagl@mail.ru

УДК 615.277.3



ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ *IN VIVO* ВОДНОГО И СПИРТОВОГО ЭКСТРАКТОВ *THYMUS MARSCHALLIANUS* WILLD

А.С. Шереметьева, А.М. Напшева, Н.А. Дурнова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
410012, Россия, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112

E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Получено 11.08.2021

После рецензирования 10.10.2021

Принята к печати 30.10.2021

Цель. Изучить противоопухолевую активность водного и спиртового экстрактов тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) на самцах беспородных белых крыс с перевитой опухолью печени РС-1.

Материалы и методы. Объект исследования – измельченная трава тимьяна Маршалла, которая собрана в окрестностях города Саратова в фазе цветения. Экстракты из указанного растительного материала были приготовлены двумя разными способами: в одном, в качестве экстрагента использовали воду, в другом – спирт этиловый 95%-ный. В эксперименте использовано 15 самцов беспородных белых лабораторных крыс массой 200±50 г, которым имплантировали подкожно, в область лопатки, альвеолярный рак печени – РС-1. Животные с перевитой опухолью методом случайной выборки были разделены на 3 группы по 5 крыс: первая, контрольная, не получавшая экстракт; вторая, опытная, получавшая спиртовой экстракт тимьяна Маршалла; третья, опытная, получавшая водный экстракт тимьяна Маршалла. Для изучения патоморфоза опухоли применялись морфологические и морфометрические методы с использованием стандартной гистологической окраски гематоксилином и эозином.

Результаты. Экспериментально установлено, что спиртовой и водный экстракты тимьяна Маршалла обладают противоопухолевой активностью. Морфологическое исследование опухолей животных показало снижение количества сохранных опухолевых клеток в поле зрения, выраженные некробиотические и атрофические изменения клеток опухоли, отсутствие митозов, разрастание соединительнотканых волокон, что соответствует II–III степени патоморфоза опухоли.

Заключение. Водный экстракт тимьяна Маршалла проявил более сильную противоопухолевую активность. При его введении в опухолевую ткань выявлены морфологические признаки апоптоза: появление апоптотических телец, кариопикноз и конденсация ядерного хроматина в опухолевых клетках. Можно предположить, что более выраженный противоопухолевый эффект водного экстракта обусловлен большим выходом флавоноидов.

Ключевые слова: экстракт; *Thymus marschallianus* Willd.; противоопухолевая активность

Список сокращений: ЯЦИ – ядерно-цитоплазматический индекс; ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения; МТС – метастазы; ГФ РФ XIV изд. – Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания.

ANTITUMOR ACTIVITY *IN VIVO* OF AQUEOUS AND ALCOHOLIC EXTRACTS OF *THYMUS MARSCHALLIANUS* WILLD

A.S. Sheremetyewa, A.M. Napsheva, N.A. Durnova

Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky
112, Bolshaya Kazachya Str., Saratov, Russia, 410012

E-mail: anna-sheremetyewa@yandex.ru

Received 11 Aug 2021

After peer review 10 Oct 2021

Accepted 30 Oct 2021

Для цитирования: А.С. Шереметьева, А.М. Напшева, Н.А. Дурнова. Противоопухолевая активность *in vivo* водного и спиртового экстрактов *Thymus Marschallianus* Willd. *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):476-484. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-476-484

© А.С. Шереметьева, А.М. Напшева, Н.А. Дурнова, 2021

For citation: A.S. Sheremetyewa, A.M. Napsheva, N.A. Durnova. Antitumor activity *in vivo* of aqueous and alcoholic extracts of *Thymus Marschallianus* Willd. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):476-484. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-476-484

The aim of research is to study the antitumor activity of aqueous and alcoholic extracts of *Thymus marschallianus* Willd. on male outbreed white rats with transplanted liver tumor PC-1.

Materials and methods. The object of study is crushed grass of *Thymus marschallianus* Willd.: collected in the Saratov vicinity in the flowering phase. Extracts from the specified plant material were made in two different ways: first way, water was used as an extractant, in the other, ethyl alcohol 95%. 15 male outbreed white laboratory rats weighing 200±50 were used in experiment. The subcutaneous injections of alveolar liver cancer RS-1 were made in scapula area. Animals with transplanted tumor were randomly divided into 3 groups of 5 rats: the first was a control (negative control) that did not receive extract; the second was an experimental one that receiving alcoholic extract of *Thymus marschallianus* Willd.; the third was an experimental one that receiving aqueous extract of *Thymus marschallianus* Willd. To study the pathomorphosis of the tumor, morphological and morphometric methods were used standard histological staining with hematoxylin and eosin.

Results It has been established that alcoholic and aqueous extracts of *Thymus marschallianus* Willd. have antitumor activity. Morphological examination of animal tumors showed a decrease in the number of preserved tumor cells in the view field, pronounced necrotic and atrophic changes in tumor cells, absence of mitosis, proliferation of connective tissue fibers corresponding to the II-III degree of tumor pathomorphosis.

Conclusion. *Thymus marschallianus* Willd. aqueous extract showed more potent antitumor activity. Introduction into tumor tissue revealed morphological signs of apoptosis: the appearance of apoptotic bodies, karyopycnosis, and condensation of nuclear chromatin in tumor cells. It can be assumed that the more pronounced antitumor effect of the aqueous extract is due to the higher yield of flavonoids.

Keywords: extract; *Thymus marschallianus* Willd.; antitumor activity

Abbreviations: NCI – nuclear cytoplasmic index; WHO – World Health Organization; MTS – metastases; SP RF XIV^{ed} – State Pharmacopoeia of Russian Federation XIV edition.

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)¹, рак является второй из основных причин смертности в мире. В 2018 г. от этого заболевания умерли 9,6 млн человек, рак становится причиной практически каждой шестой смерти в мире. Основными методами лечения рака являются операционная, химио- и лучевая терапия². Однако доказана противоопухолевая активность как отдельных природных соединений (алкалоиды, терпеноиды, хиноны), так и растительных экстрактов в целом, например, аконита байкальского (*Aconitum baicalense* Turcz. ex Rapaics семейство *Ranunculaceae*) [2], каланхоэ Дегремона (*Kalanchoe daigremontiana* Raym.-Hamet & N.Perrier семейство *Crassulaceae*), алоэ древовидного (*Aloe arborescens* Mill. семейство *Asphodelaceae*) [3], лекарственные препараты из которых назначают в комплексном лечении рака [1]. Как потенциальные противоопухолевые соединения изучаются флавоноиды, полисахариды и др. [1]. Растительные извлечения являются перспективным объектом исследований в области онкотерапии из-за возможности нахождения веществ с новым механизмом действия, позволяющим адресно воздействовать на опухолевые клетки не повреждая нормальные. Основными химическими соединениями тимьяна Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.) являются эфирное масло, фенольные соединения, тритерпеновые соединения, полисахаридные комплексы, минеральные элементы, аминокислоты, органические кислоты [4–11], что делает его перспективным с точки зрения изучения противоопухолевой активности.

Ранее изучалась противоопухолевая активность представителей рода тимьян (*Thymus* L.), произрастающих на территориях разных стран – *T. algeriensis* [12–13], *T. vulgaris* [12, 14–17], *T. serpyllum*, [12, 18–19], *T. caramanicus*, *T. carnosus* Boiss., *T. citriodorus*, *T. mastichina*, *T. pulegioides*, *T. satureioides*, *T. schimperi*, *T. zygis* [12]. Например, *in vitro* показаны антипролиферативные эффекты этанольного лиофильного экстракта и эфирного масла *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. с использованием теста МТТ, которые оценивались на пяти линиях раковых клеток человека: на клеточных линиях аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 и MDA-MB-231, клетках аденокарциномы человека HeLa, линии клеток рака предстательной железы человека PC3 и линии клеток лейкемии человека K56S [13]. Эфирное масло показало большую эффективность в подавлении роста раковых клеток всех линий, чем этанольные экстракты. Так, для этанольного экстракта значение LD₅₀ составило более 10000 мкг/мл, а для эфирного масла значение LD₅₀ было в диапазоне 300–1067 мкг/мл в отношении различных линий раковых клеток, использованных в этом исследовании. В качестве положительного контроля был использован доксорубин (противоопухолевый препарат), который продемонстрировал значения LD₅₀ в диапазоне от 1 до 20 мкг/мл [13]. В другом эксперименте [16] показан антипролиферативный эффект эфирного масла *Thymus vulgaris* L. на линии клеток MCF-7 и MDA-MB-231 с помощью колориметрических анализов МТТ (для контроля цитотоксичности) и ELISA (для контроля клеточной пролиферации). Результаты показали, что эфирное масло тимьяна обыкновенного значительно снижало метаболическую активность и впоследствии выживаемость клеток в обеих тестируемых клеточных линиях: при концентрации 0,12 мкг/мл – линии клеток MDA-

¹ World Health Organization. Cancer. 2021. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.

² Там же.

MB-231 и 0,13 мкг/мл – линии клеток MCF-7 [16]. Метанольный экстракт тимьяна ползучего (*Thymus serpyllum* L.) показал противораковую активность на линии клеток эпителиоидной карциномы шейки матки человека (HCEpC), которая была установлена с помощью МТТ-теста. В эксперименте использован диапазон концентраций 500–2500 мкг/мл, при котором цитотоксичность изменялась от 50 до 100% соответственно [18]. Кроме того, установлена способность экстракта тимьяна ползучего индуцировать апоптоз линии опухолевых клеток рака молочной железы (MCF-7 и MDA-MB-231), при этом не проявляя цитотоксического действия на линии здоровых клеток молочной железы (MCF-10A) человека [19].

Тимьян ползучий (*Thymus serpyllum* L.), являющийся официальным видом, причем на территории Саратовской области, встречается в качестве редкого заносного вида и, ресурсного значения в регионе он не имеет [20]. Наиболее распространенным на территории Саратовской области является близкородственный вид – тимьян Маршалла (*Thymus marschallianus* Willd.). Близкородственные растения часто проявляют подобное фармакологическое действие, так как обладают аналогичным химическим составом [21]. Так, например, дикорастущий тимьян Маршалла ранее показал отхаркивающую, противовоспалительную, ангиопротекторную, антиоксидантную активности, как и фармакопейный вид – тимьян ползучий. Эффекты этих двух видов были сопоставимы [22]. При этом количественное содержание эфирных масел в траве тимьяна Маршалла превосходило содержание масел в траве тимьяна ползучего [23].

Следует отметить, что большинство исследований противоопухолевой активности представителей рода тимьян были основаны на опытах *in vitro* [12–15, 17–19], тогда как экспериментов *in vivo* [16] очень мало. Сведения о влиянии экстрактов из сырья тимьяна Маршалла на клетки опухоли в литературе отсутствуют.

ЦЕЛЬ. Изучить противоопухолевую активность водного и спиртового экстрактов тимьяна Маршалла на самцах беспородных белых крыс с перевитой опухолью печени РС-1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использована измельченная трава тимьяна Маршалла, которая собрана в окрестностях г. Саратова в июне-июле 2018 г. в фазе цветения. Определение вида проводилось по ключу В.Н. Гладковой и Ю.Л. Меницкого во «Флоре европейской части СССР»³. Сырье сушили в сухом, хорошо проветриваемом месте, затем измельчали до частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 2 мм.

³ Федоров А.А., Меницкий Ю.Л. Флора европейской части СССР – Л.: Наука, 1978. – 259 с.

Методика приготовления экстрактов

Экстракты из указанного растительного материала были приготовлены двумя разными способами:

1. Согласно методике Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания (ГФ РФ XIV изд.) ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары», 10 г сырья помещали в предварительно нагретый на кипящей водяной бане стакан, заливали 100 мл воды комнатной температуры (соотношение сырья и экстрагента 1:10), закрывали крышкой и настаивали на водяной бане в течение 15 мин, а затем при комнатной температуре – 45 мин. Полученное извлечение упаривали на водяной бане до получения густого экстракта (выход составил 1,0±0,2 г), а затем разводили водой для инъекций до концентрации 100 мг/мл.

Технология данного способа экстракции регламентирована ГФ РФ XIV изд., валидирована и легко воспроизводима.

2. Согласно запатентованной методике [24] двукратную экстракцию проводили спиртом этиловым 95% (10 г сырья заливали 100 мл спирта) кипятили в течение 15 мин, полученное извлечение сливали, оставшееся сырье снова заливали 100 мл спирта, доводили до кипения и сливали к первому извлечению. Полученный экстракт упаривали на водяной бане до состояния густого экстракта, разводили дистиллированной водой, очищали хлорформом, центрифугировали в течение 15 мин, затем очищенную водную фракцию упаривали на водяной бане до получения густого экстракта (выход составил 0,4±0,1 г), а затем разводили водой для инъекций до концентрации 100 мг/мл.

Экстракт травы тимьяна Маршалла, полученный данным способом, ранее показал антимикробную активность [26]. Кроме того, у экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis*), полученного данным методом, ранее показана противоопухолевая активность [24, 26].

Работа с лабораторными животными

Работу с лабораторными животными осуществляли согласно протоколу исследований, не противоречащих директиве 2010/63/еу Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. Тема и описание экспериментов одобрены этической комиссией ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол №4 от 3 мая 2020 г.).

Дизайн эксперимента

В эксперименте, проводимом в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ⁴, использовано 15 самцов беспородных белых лабо-

⁴ Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журавлева М.В., Лепяхин В.К., Яворский А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств // Москва: Гриф и К. – 2012. – 944 с.

раторных крыс массой 200 ± 50 г, которым имплантировали подкожно, в области лопатки, по 0,5 мл 25% опухолевой взвеси в растворе Хэнкса штамма альвеолярного рака печени – РС-1, полученного из банка опухолевых штаммов ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Животные с перевитой опухолью методом случайной выборки были разделены на 3 группы по 5 крыс: первая – контрольная (негативный контроль), не получавшая экстракт; вторая – опытная, получавшая спиртовой экстракт тимьяна Маршалла; третья – опытная, получавшая водный экстракт тимьяна Маршалла. После достижения опухолью 1 см^3 (на 18-й день от начала эксперимента) в опытных группах крысам вводили экстракт внутривенно в дозе 100 мг/кг, один раз в сутки в течение следующих 14-ти дней (18-31 дни эксперимента). После отмены введения экстракта за лабораторными животными должно было осуществляться наблюдение в течение 7 суток (32–38 дни эксперимента), но в связи с распадом опухолевых образований в группе животных, получавших спиртовой экстракт тимьяна, животные всех групп были выведены из эксперимента досрочно на 32-й день.

Динамику роста опухоли оценивали по изменению ее объема по формуле:

$$V = A \times B \times C,$$

где: А – ширина, В – толщина, С – высота опухоли.

Измерения проводили штангенциркулем каждые два дня от начала эксперимента. Для анализа результатов высчитывали истинную массу животного, вычитая теоретическую массу опухоли (умножая объем опухоли на ее плотность) из массы при взвешивании и изменяли истинной массы:

$$M_{\text{истин.}} = M_{\text{жив.}} - V \times \rho,$$

где: $M_{\text{истин.}}/M_{\text{жив.}}$ – это масса при взвешивании; V – объем опухоли; ρ – плотность прививаемой опухоли $0,74 \text{ г/см}^3$ [26].

Изменение истинной массы тела животных (дельта) определяли путем вычитания массы животного до начала эксперимента из истинной массы животного в день эксперимента и выражали в процентах. На 32-е сутки крыс выводили из эксперимента и производили забор образцов ткани органов, опухоли, крови для дополнительных исследований.

Для изучения патоморфоза опухоли применялись морфологические и морфометрические методы с использованием стандартной гистологической окраски гематоксилином и эозином. При изучении ткани опухоли оценивали наличие дистрофических и некробиотических изменений, а также морфометрические показатели такие, как: диаметр опухолевой клетки, соотношение диаметров опухолевой клетки и её ядра, ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ). Подсчет проводили на 100 клеток в 10 полях зрения каждого микропрепарата, с помощью Микровизора медицинского проходящего света $\mu\text{Vizo-101}$ (ЛОМО, Россия).

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Проверку нормальности распределения количественных признаков и проверку равенства генеральных дисперсий осуществляли с помощью критериев Шапиро-Уилка и точного критерия Фишера. Описательную статистику количественных признаков представляли в виде центральной тенденции – медианы (Me), интервала (минимальное и максимальное значение изучаемого признака) и интерквартильного размаха (25 и 75 процентиля). В тексте эти значения указывали как Me, [min-max], LQ; UQ). Различия между группами определяли с помощью критерия Краскела-Уоллиса, а также U-критерия Манна-Уитни. Уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных, получавших спиртовой экстракт тимьяна Маршалла, в середине эксперимента наблюдали заметный рост опухоли, но достоверных отличий от контроля не установлено ($P = 0,427$). У крыс, получавших водный экстракт, динамика изменения объема опухоли была сопоставима с измерениями в контрольной группе и не отличалась от нее ($P = 0,919$).

Животные всех групп набрали максимальный вес до того, как опухоль стала 1 см^3 в объеме (на 11-ый день). Во время эксперимента наблюдали колебания динамики истинной массы животных: в контрольной группе это изменение составило 4,6%. При введении экстракта тимьяна Маршалла (18–31 день) также наблюдали колебания динамики истинной массы животных: к концу эксперимента в группе, получавшей спиртовой экстракт, истинная масса тела крыс увеличилась на 2,7%, но данные изменения, при сравнении с контролем, были недостоверны ($P = 0,835$), а у животных, получавших водный экстракт, она увеличилась на 14,4% относительно массы на момент начала эксперимента по сравнению с контрольной группой ($P = 0,037$) (табл. 1).

Данные изменения свидетельствуют о том, что в группе животных, получавших водный экстракт тимьяна, снижение массы тела происходило медленнее, чем в контроле и группе, получавшей спиртовой экстракт.

При морфологическом исследовании выявлено, что перевиваемая опухоль в группе контроля состояла из ячеистых структур разной формы и величины, разделенными тонкими прослойками соединительной ткани (рис. 1). Опухолевые клетки овальной или округлой формы, в цитоплазме которых расположены крупные вакуоли, содержащие слизь и оттесняющие овальное ядро на периферию клетки. Количество митозов составило до 6-ти в одном поле зрения. Отмечены единичные опухолевые клетки в состоянии некроза.

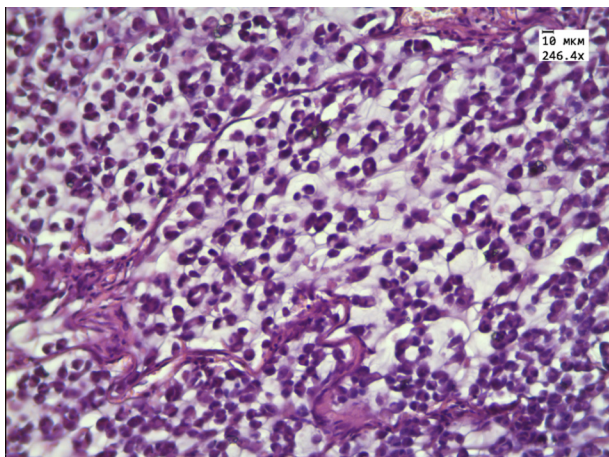


Рисунок 1 – Гистологическое строение опухоли в группе контроля

Примечание: клетки опухоли разделены тонкими прослойками соединительной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4х.

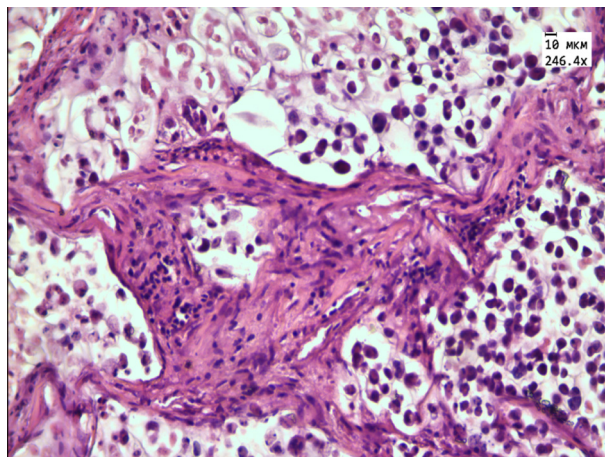


Рисунок 2 – Гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей спиртовой экстракт тимьяна Маршалла

Примечание: дистрофические и некротические изменения опухолевых клеток, «клетки-тени» (черная стрелка), утолщение соединительнотканых перегородок (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4х.

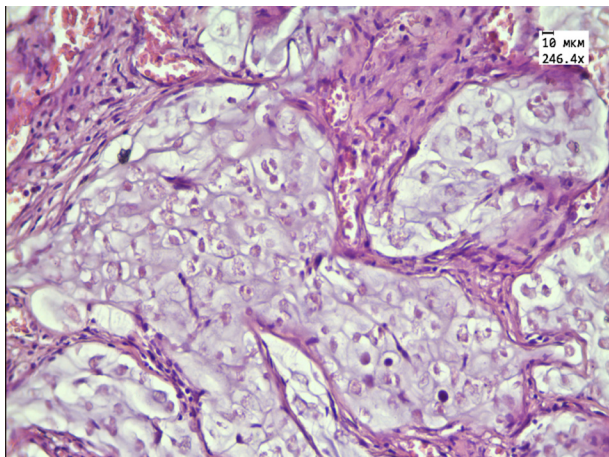


Рисунок 3 – Гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей водный экстракт тимьяна Маршалла

Примечание: очаги некроза опухолевой ткани (черная стрелка), утолщение соединительнотканых перегородок (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4х.

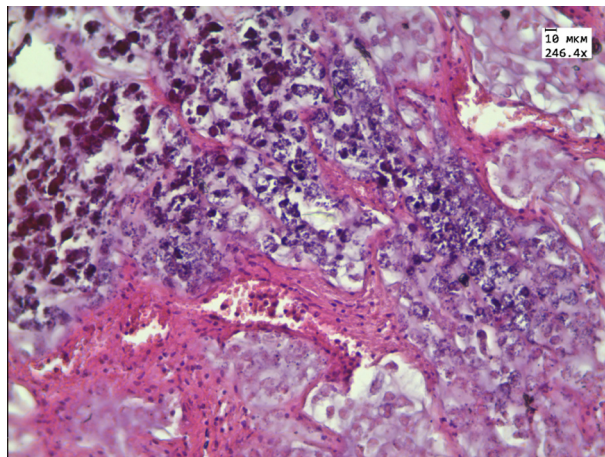


Рисунок 4 – Гистологическое строение перевиваемого рака печени в группе, получавшей водный экстракт тимьяна Маршалла

Примечание: Конденсация ядерного хроматина и кариорексис в опухолевых клетках (белая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 246,4х.

Таблица 1 – Динамика изменения объема перевиваемой опухоли крыс РС-1 и истинной массы тела экспериментальных животных

Группа	Группа контроля	Спиртовой экстракт тимьяна	Водный экстракт тимьяна	p*	p**
		Me (LQ; UQ) [min-max]			
Объем опухоли	11087; (3678–22210); [162–62350]	15150; (4863,5–20736); [180–95040]	9948; (3072–19941); [160–49910]	0,583	0,329
Изменение истинной массы тела животных	6,53; (3,7–6,9); [-5,7–11,5]	0,7; (-2,1–8,7); [-3,1–9,4]	15,4; (11,3–16,4); [8,0–20,7]	0,000	0,037

Примечание: Me – медиана, LQ – нижний квартиль, UQ – верхний квартиль; [min-max] – минимальное и максимальное значение определяемого признака; P* – значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса; P** – значимость различий между двумя экспериментальными группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

Таблица 2 – Морфометрические показатели клеток перевиваемого рака печени

Группа	Группа контроля	Спиртовой экстракт	Водный экстракт	p*	p**
		тимьяна	тимьяна		
Показатель		Me (LQ; UQ) [min-max]			
Количество клеток в поле зрения	90 (82–96); [68–123]	39 (34–47); [24–64]	11 (9–15); [6–18]	0,000	0,000
Количество некротизированных клеток	1 (1–2); [0–4]	20,05 (11–34); [7–47]	42 (38–44); [28–54]	0,000	0,000
Диаметр опухолевой клетки	14 (13–15); [12–21]	7 (6–8) [6–12]	7 (6–8); [6–10]	0,000	0,065
Диаметр ядра опухолевой клетки	8 (7–9); [6–10]	3 (3–4) [2–5]	3 (2–3); [2–3]	0,000	0,000
Ядерно-цитоплазматическое соотношение	0,6 (0,5–0,6); [0,5–0,8]	0,43 (0,38–0,5); [0,3–0,83]	0,38 (0,33–0,43); [0,2–0,5]	0,001	0,001

Примечание: Me – медиана, LQ – нижний квартиль, UQ – верхний квартиль; [min-max] – минимальное и максимальное значение определяемого признака; P* – значимость различий между группами оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса; P** – значимость различий между двумя экспериментальными группами оценивали с помощью критерия Манна-Уитни.

При морфологическом и морфометрическом изучении ткани опухоли в группе крыс, получавших спиртовой экстракт тимьяна, обращал на себя внимание выраженный патоморфоз преимущественно в центральных отделах опухоли, где отмечалось большое количество «клеток-теней», уменьшение размеров опухолевых клеток, обширные зоны некроза. Остаточные клетки опухоли представлены мелкими округлыми клетками с ядрами округлой или бобовидной формы, с единичными мелкими вакуолями, содержащими слизь. Клетки опухоли расположены в ячейках, образованных утолщенными соединительнотканскими перегородками с большим количеством тонкостенных полнокровных сосудов. Волокна соединительной ткани инфильтрированы лимфоцитами. Митоз определяли лишь в одном случае наблюдения (рис. 2).

В группе крыс, получавших водный экстракт тимьяна, опухоль представлена мелкими округлыми клетками с уменьшенным в размерах уплощенным ядром, расположенными по периферии ткани опухоли. Центральные отделы при этом представлены обширными очагами некроза, большим количеством «клеток-теней» и утолщенными соединительнотканскими перегородками с большим количеством полнокровных сосудов, а также обширными скоплениями опухолевых клеток с признаками апоптоза – кариопикноза, конденсации ядерного хроматина и кариорексиса, большим количеством апоптотических телец (рис. 3, 4).

При морфометрическом исследовании определяли снижение среднего числа сохранных опухолевых клеток в поле зрения в 2,2 раза в группе крыс,

получавших спиртовой экстракт тимьяна, и в 7,8 раза в группе крыс, получавших водный экстракт, по сравнению с группой контроля.

Уменьшение размера опухолевых клеток в 2 раза, по сравнению с группой контроля, отмечали в обеих опытных группах. Так в группе крыс, получавших спиртовой экстракт тимьяна, средний диаметр опухолевой клетки был в 1,86 раза, а в группе крыс, получавших водный экстракт, в 1,99 раза меньше по сравнению с группой контроля. Кроме того, отмечалось уменьшение и диаметра ядра опухолевых клеток, а также уменьшение значений ядерно-цитоплазматического соотношения как в группе животных, получавших спиртовой экстракт (0,43), так и получавших водный экстракт тимьяна (0,38) по сравнению с группой контроля (0,6) (табл. 2).

Ранее Kubatka P. с соавт., было проведено изучение противоопухолевой активности *Thymus vulgaris* L. на моделях карциномы молочной железы *in vivo* [16]. В эксперименте проведено изучение химиофилактики (модель NMU-индуцированного канцерогенеза молочной железы на самках крыс) и терапевтического применения (модель аденокарциномы 4T1 на самках мышей). Животным вводили в рацион гранулы травы тимьяна обыкновенного (траву измельчали до частиц размером 2 мм и обрабатывали с помощью «процедуры холодного гранулирования») в двух концентрациях 1 г/кг и 10 г/кг. Крысам гранулы начинали давать за неделю до введения канцерогена и продолжали до 15-ти недель эксперимента, а мышам – со дня инокуляции клеток карциномы и до 15-ти дней. Потребление пищи во время эксперимента в течение 24-х часов отслеживали четыре раза

у крыс и дважды у мышей. Средняя суточная доза тимьяна обыкновенного на крысу составила 16,27 мг (тимьян 1 г/кг) и 172,00 мг (тимьян 10 г/кг), а на мышью – 2,06 мг (тимьян 1 г/кг) и 15,13 мг (тимьян 10 г/кг). Тимьян обыкновенный в дозе 10 г/кг значительно ингибировал образование карциномы молочной железы у крыс на 53% по сравнению с контролем, но латентность опухоли и ее средний объем существенно не изменились. Химиопрофилактическая эффективность (частота опухолей), наблюдаемая в этой группе крыс, значимо коррелировала с уменьшением опухолей, то есть было отмечено небольшое количество новых опухолей, которые росли дольше. Тимьян обыкновенный в дозе 1 г/кг не показал каких-либо значительных изменений по сравнению с контролем. У мышей, получавших тимьян обыкновенный, объем опухолей был значительно меньше в двух экспериментальных группах по сравнению с контролем: на 85% в группе, получавшей гранулы в концентрации 1 г/кг и на 84% в группе, получавшей гранулы в концентрации 10 г/кг. Более того, у мышей тимьян обыкновенный в обеих дозах достоверно уменьшал соотношение некроза ко всей площади опухоли – на 77% (тимьян 1 г/кг) и 81% (тимьян 10 г/кг) по сравнению с контролем, а также индекс митотической активности – на 31,5% (тимьян 1 г/кг) и 25% (тимьян 10 г/кг) по сравнению с контролем при аденокарциномах.

В нашем эксперименте *in vivo*, проведенном на крысах, был использован альвеолярный рак печени РС-1. Животным внутривенно вводили экстракты из травы тимьяна Маршалла в дозе 100 мг/кг (0,1 г/кг) в течение 14-ти дней после достижения опухолью 1 см³, то есть нами проведено изучение эффективности терапевтического применения экстрактов тимьяна Маршалла. В статье Kubatka P. с соавт., не отмечено общее состояние животных (изменение веса животных, аппетита), что не позволяет сравнить антикахектическую активность гранул тимьяна обыкновенного и изученных нами экстрактов тимьяна Маршалла. Следует отметить, что в этом эксперименте при канцерогенезе молочной железы у крыс, индуцированном хемоканцерогеном, гранулы тимьяна обыкновенного в дозе 10 г/кг значительно снизили частоту возникновения опухолей (на 53%). Это доказывает эффективность их применения в качестве химиопрофилактического средства. С помощью данной экспериментальной модели трудно оценить ключевые параметры терапевтического эффекта (объем опухоли), так как у крыс с эффективной химиопрофилактикой было относительно небольшое количество новых опухолей по сравнению с контрольной группой. Модель трансплантации карциномы мышам [16], как и в нашем эксперименте, позволяет оценить терапевтический эффект исследуемых веществ, так как их действие направлено против существующих раковых клеток. В нашем эксперименте показано, что объем опухолей у крыс опытных групп изменялся так

же, как и в контрольной группе, однако при гистологическом анализе опухолей животных, получавших экстракты в дозе 100 мг/кг. Нами выявлено снижение количества сохранных опухолевых клеток в поле зрения, выраженные некробиотические и атрофические изменения клеток опухоли, отсутствие митозов, разрастание соединительнотканых волокон, за счет которых, вероятно, объем опухолей не уменьшался. При этом водный экстракт тимьяна Маршалла проявил более выраженный противоопухолевый эффект, так как при его введении выявлены морфологические признаки апоптоза.

В эксперименте Kubatka P. с соавт. [16], объем опухолей у мышей, получавших гранулы тимьяна обыкновенного в двух исследуемых дозах (1 г/кг и 10 г/кг), был меньше, чем в контрольной группе. Описанные авторами результаты продемонстрированы несколькими механизмами противоопухолевого действия, изученными в эксперименте, – проапоптотический, антипролиферативный, антиангиогенный, антиоксидантный [16]. Таким образом, наш эксперимент и исследование Kubatka P. с соавт. [16] продемонстрировали значительную противораковую активность *in vivo* представителей рода тимьян (*тимьяна Маршалла* и *тимьяна обыкновенного*), но, несмотря на то, что эти виды являются близкородственными, характер проявляемых эффектов разный. Можно предположить, что разное изменение объема опухолей и разный характер структурных изменений опухоли у животных в двух экспериментах обусловлены различной чувствительностью раковых клеток *in vivo* к фитохимическим веществам, вариативностью химического состава исследуемых видов растений, а также зависимостью от дозы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, динамика роста объема опухоли под влиянием как спиртового, так и водного экстрактов тимьяна Маршалла, была сопоставима с измерениями в контрольной группе (достоверных отличий от контроля не установлено). При этом в обеих опытных группах, получавших экстракты тимьяна, наряду с некротическими изменениями отмечается разрастание волокон соединительной ткани, что, вероятно, объясняет недостоверность изменений объема опухолевых образований в этих группах.

Морфологический анализ ткани опухоли показал противоопухолевую активность как спиртового, так и водного экстрактов травы тимьяна Маршалла о чем свидетельствуют снижение количества сохранных опухолевых клеток в поле зрения, выраженные некробиотические и атрофические изменения клеток опухоли, отсутствие митозов, разрастание соединительнотканых волокон, что соответствует II-III степени патоморфоза опухоли [27]. Следует отметить, что водный экстракт тимьяна Маршалла проявил более сильную противоопухолевую активность, так как при

его введении выявлены морфологические признаки апоптоза: появление апоптотических телец, кареопикноз и конденсация ядерного хроматина в опухолевых

клетках. Можно предположить, что более выраженный противоопухолевый эффект водного экстракта обусловлен большим выходом флавоноидов.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансирования от сторонних организаций

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.С. Шереметьева – сбор растительного материала для эксперимента, проведение эксперимента и сбор данных, анализ и интерпретация полученных данных, статистическая обработка полученных результатов, анализ литературы, написание рукописи; А.М. Напшева – анализ и интерпретация полученных данных, статистическая обработка полученных результатов, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи; Н.А. Дурнова – планирование исследования, участие в разработке концепции и дизайна исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Турсунова Н.В., Чуринов Б.В., Клиникова М.Г. Противоопухолевая активность соединений природного происхождения // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 5. – С. 201–201.
2. Поветьева Т.Н., Пашинский В.Г., Семенов А.А., Жапова Ц., Погодаева Н.Н., Хоруужая Т.Г. Исследование противоопухолевых и антимиастатических свойств растительных средств из аконита байкальского // Сибирский онкологический журнал. – 2002. – № 3–4. – С. 138–141.
3. Приходченко Т.Р., Актентьева Н.П., Немирова Е.С., Гизатуллин А.Р., Шкондина Н.И. Изучение противоопухолевой активности растительных экстрактов (*Kalanchoe daigremontiana*, *Aloe arborescens*) на клетках множественной миеломы // Российский биотерапевтический журнал. – 2018. – Т. 17, № 5. – С. 59–60.
4. Винокурова О.А., Тринева О.В., Сливкин А.И. Сравнительная характеристика различных видов тимьяна: состав, свойства, применение (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2016. – № 4. – С. 134–50.
5. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А., Лапина Е.С. Тимьян Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) – источник пектиновых веществ // Успехи современного естествознания. – 2015. – № 1–7. – С. 1139–1141.
6. Sevastre-Berghian A.C., Ielciu I., Mitre A.O., Filip G.A., Oniga I., Vlase L., Benedec D., Gheldiu A.M., Toma V.A., Mihart B., Mihuț A., Bâldea I., Olteanu D., Chis I.C., Clichici S.V., Hanganu D. Targeting Oxidative Stress Reduction and Inhibition of HDAC1, MECP2, and NF-κB Pathways in Rats With Experimentally Induced Hyperglycemia by Administration of *Thymus marshallianus* Willd. Extracts // Front Pharmacol. – 2020. – No.11. – Art. No.581470. DOI: 10.3389/fphar.2020.581470.
7. Шереметьева А.С., Фролова А.В., Дурнова Н.А. Влияние условий экстракции на качественный состав извлечений из травы тимьяна Маршалла. Гармонизация подходов к фармацевтической разработке. Сб. тезисов III Междунар. Науч.-практ. конф. Рос. Ун-тет дружбы народов. – Москва, 2020. – С. 133–136.
8. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А. Аминокислотный и минеральный состав травы тимьяна Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2012. – № 6–1. – С. 214–216.
9. Старчак Ю.А., Бубенчикова В.Н. Жирнокислотный и углеводный состав травы тимьяна Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) // Ученые записки Орловского государственного университета. Серия: Естественные, технические и медицинские науки. – 2014. – Т. 1, № 7. – С. 221–222.
10. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А., Попова Н.В. Анализ гидроксикоричных кислот в траве тимьяна ползучего и тимьяна Маршалла // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2014. – № 4. – С. 28–31.
11. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А., Безъязычная А.А. Карбоновые кислоты травы тимьяна Маршалла (*Thymus marchallianus* Willd.) // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2–15. – С. 3316–3318.
12. Afonso A.F., Pereira O.R., Cardoso S.M. Health-promoting effects of *Thymus* phenolic-rich extracts: Antioxidant, anti-inflammatory and antitumoral properties // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9, No.9. – P. 814–834. DOI: 10.3390/antiox9090814.
13. Rezzoug M., Bakchiche B., Gherib A., Roberta A., Kiliñarçlan Ö., Mammadov R., Bardaweel S.K. Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. Reut. from the Algerian Saharan Atlas // BMC complementary and alternative medicine. – 2019. – Vol.19, No.1. – P. 1–10. DOI: 10.1186/s12906-019-2556-y.
14. Patil S.M., Ramu R., Shirahatti P.S., Shivamallu C., Amachawadi R.G. A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn. // Heliyon. – 2021. – Vol. 7, No.5. – P. e07054. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e07054.
15. Niksic H., Becic F., Koric E., Gusic I., Omeragic E., Muratovic S., Duric K. Cytotoxicity screening of *Thymus vulgaris* L. essential oil in brine shrimp nauplii and cancer cell lines // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11, No.1. – P. 1–9. DOI: 10.1038/s41598-021-92679-x.
16. Kubatka P., Uramova S., Kello M., Kajo K., Samec M., Jasek

- K., Vybohova D., Liskova A., Mojzis J., Adamkov M., Zubor P., Smejkal K., Svajdlenka E., Solar P., Samuel S.M., Zulli A., Kassayova M., Lasabova Z., Kwon T.K., Pec M., Danko J., Büsselberg D. Anticancer activities of *Thymus vulgaris* L. in experimental breast carcinoma in vivo and in vitro // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20, No.7. – P. 1749. DOI: 10.3390/ijms20071749.
17. Heidari Z., Salehzadeh A., Shandiz S.A.S., Tajdoost S. Anti-cancer and anti-oxidant properties of ethanolic leaf extract of *Thymus vulgaris* and its bio-functionalized silver nanoparticles // 3 Biotech. – 2018. – Vol. 8, No.3. – P. 1–14. DOI: 10.1007/s13205-018-1199-x.
 18. Балакина А.А., Кузьмина Е.А., Древова А.Н., Мубарак М.М., Карсункина Н.П., Калашникова Е.А., Чередниченко М.Ю. Оценка цитотоксического действия экстрактов из лекарственных растений на клеточную линию M HeLa // Вестник Рязанского государственного агротехнического университета имени П.А. Костычева. – 2015. – Т. 4, № 28. – С. 127–131.
 19. Bozkurt E., Atmaca H., Kisim A., Uzunoglu S., Uslu R., Karaca B. Effects of *Thymus serpyllum* extract on cell proliferation, apoptosis and epigenetic events in human breast cancer cells // Nutrition and cancer. – 2012. – Vol.64, No.8. – P. 1245–1250. DOI: 10.1080/01635581.2012.719658.
 20. Скворцова И.В., Березуцкий М.А. Флора железнодорожных насыпей южной части Приволжской возвышенности // Поволжский экологический журнал. – 2008. – № 1. – С. 55–64.
 21. Кусова Р.Д. Исследование флавоноидов и оксикоричных кислот в траве *Thymus marschallianus* Willd. // Ежемесячный научный журнал. – 2014. – № 2. – С. 142–144.
 22. Бубенчикова В.Н., Старчак Ю.А. Изучение отхаркивающей активности растений рода тимьян // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т. 8, № 5. – С. 78–80.
 23. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Березуцкий М.А. Содержание эфирных масел в траве разных видов рода тимьян (*Thymus* L.) // Бюллетень ботанического сада Саратовского государственного университета. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 15–19.
 24. Polukonova N.V., Navolokin N.A., Durnova N.A., Masljakova G.N., Bucharskaja A.B, inventors; Polukonova N.V., Navolokin N.A., proprietors. Method for preparing dry extract of herbal raw material possessing biological activity. – RU 2482863. – 2012.
 25. Шереметьева А.С., Дурнова Н.А., Райкова С.В. Исследование антимикробной активности водно-спиртового экстракта тимьяна Маршалла // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения. Москва. – 2019. – С. 509–514.
 26. Наволокин Н.А., Мудрак Д.А., Полуконова Н.В., Тычина С.А., Корчаков Н.В., Бучарская А.Б., Маслякова Г.Н. Оценка противоопухолевой и антикахектической активности экстракта аврана лекарственного (*Gratiola officinalis* L.) у крыс с перевитой саркомой // Сибирский онкологический журнал. – 2016. – Т. 15, № 1. – С. 37–43. DOI: 10.21294/1814-4861-2016-15-1-37-43.
 27. Лушников Е.Ф., Абросимов А.Ю. Учение Я.Л. Рапопорта о патоморфозе: прошлое и настоящее // Архив патологии. – 2013. – № 4. – С. 62–66.

АВТОРЫ

Шереметьева Анна Сергеевна – старший преподаватель кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0022-8318. E-mail: anna-sheremeteyewa@yandex.ru

Напшева Анета Мухамедовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «СГМУ им. В.И. Разумовского»

Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7471-4335. E-mail: a.napsheva@yandex.ru

Дурнова Наталья Анатольевна – доктор биологических наук, доцент, зав. кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4628-9519. E-mail: ndurnova@mail.ru

УДК: 616.45-001.1/.3:547.853.3:615.015



ВЛИЯНИЕ ГЛИПРОЛИНОВ НА УРОВЕНЬ АПОПТОТИЧЕСКИХ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В УСЛОВИЯХ «СОЦИАЛЬНОГО» СТРЕССА

А.Л. Ясенявская¹, А.А. Цибизова¹, Л.А. Андреева², Н.Ф. Мясоедов²,
О.А. Башкина¹, М.А. Самотруева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
414000, Россия, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121

² Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт молекулярной генетики
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
123182, Россия, г. Москва, пл. академика Курчатова, д. 2

E-mail: yasen_9@mail.ru

Получена 04.10.2021

После рецензирования 17.11.2021

Принята к печати 25.11.2021

Цель. Изучить влияние глипролиновых нейропептидных соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu на уровень апоптотических (каспаза-3, каспаза-8, фактор некроза опухоли) и нейротрофических (фактор роста нервов и нейротрофический фактор головного мозга) факторов в сыворотке крови белых крыс в условиях экспериментального моделирования «социального» стресса.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования проводили на 90 нелинейных белых крысах-самцах 6-месячного возраста. В процессе моделирования «социального» стресса все крысы были разделены по типу поведения на «агрессоров» и «жертв». В исследовании формировались экспериментальные группы (n=10): контрольные особи; группы крыс, в течение 20 дней подвергавшиеся воздействию стресса; группы животных, получавших внутривенно в дозе 100 мкг/кг/сут, начиная с 1-го дня воздействия стресс-фактора, курсом 20 дней глипролиновые соединения Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu. Влияние соединений на уровень апоптотических и нейротрофических факторов оценивали путем определения уровня каспазы-3, каспазы-8, фактора некроза опухоли, фактора роста нервов и нейротрофического фактора головного мозга сыворотки крови белых крыс методом иммуноферментного анализа.

Результаты. По результатам проведенного исследования было установлено, что в условиях «социального» стресса наблюдалось усиление апоптотических процессов, сопровождающихся увеличением уровня каспазы-3, каспазы-8, TNF-α в сыворотке крови белых крыс, а также снижение концентрации нейротрофических факторов: BDNF и NGF. Введение глипролиновых соединений на фоне стресса способствовало восстановлению уровня исследуемых показателей, что, вероятнее всего, связано с наличием у глипролинов антиапоптотического и нейропротекторного действия за счет ингибирования каспаза-зависимого каскада реакций апоптоза, а также индукции синтеза нейротрофических факторов, обладающих антиапоптотической активностью.

Заключение. Таким образом, введение глипролиновых нейропептидных соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu в условиях стрессогенного воздействия способствует восстановлению уровня иницирующей и эффекторной каспаз, а также нейротрофических факторов. По итогу проведенного эксперимента наблюдается антиапоптотический эффект за счет ингибирования каспаза-зависимого каскада реакций, а также стресс-протекторный за счет восстановления уровня нейротрофических факторов мозга.

Ключевые слова: глипролины; нейропептиды; «социальный» стресс; апоптоз; каспазы; фактор некроза опухоли; нейротрофический фактор мозга; фактор роста нервов

Список сокращений: TNF-α – фактор некроза опухоли; NGF – фактор роста нервов; BDNF – нейротрофический фактор головного мозга; ЦНС – центральная нервная система; cIAP – клеточный ингибитор белков апоптоза.

Для цитирования: А.Л. Ясенявская, А.А. Цибизова, Л.А. Андреева, Н.Ф. Мясоедов, О.А. Башкина, М.А. Самотруева. Влияние глипролинов на уровень апоптотических и нейротрофических факторов в условиях «социального» стресса. *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):485-494. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-485-494

© А.Л. Ясенявская, А.А. Цибизова, Л.А. Андреева, Н.Ф. Мясоедов, О.А. Башкина, М.А. Самотруева, 2021

For citation: A.L. Ysenyavskaya, A.A. Tsibizova, L.A. Andreeva, N.F. Myasoedov, O.A. Bashkina, M.A. Samotrueva. Effect of glyprolines on the level of apoptotic and neurotrophic factors under conditions of "social" stress. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):485-494. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-485-494

EFFECT OF GLYPROLINES ON THE LEVEL OF APOPTOTIC AND NEUROTROPHIC FACTORS UNDER CONDITIONS OF “SOCIAL” STRESS

A.L. Yasenyavskaya¹, A.A. Tsibizova¹, L.A. Andreeva², N.F. Myasoedov²,
O.A. Bashkina¹, M.A. Samotrueva¹

¹ Astrakhan State Medical University
121, Bakinskaya Str., Astrakhan, Russia, 414000

² Institute of Molecular Genetics of National Research Centre «Kurchatov Institute»
2, Academician Kurchatov Square, Moscow, Russia, 123182

E-mail: yasen_9@mail.ru

Received 04 Oct 2021

After peer review 17 Nov 2021

Accepted 25 Nov 2021

The aim of the article was to study the effect of glyproline neuropeptide compounds Thr–Lys–Pro–Arg–Pro–Gly–Pro (Selank), Pro–Gly–Pro and Pro–Gly–Pro–Leu, on the level of apoptotic factors (caspase-3, caspase-8, the tumor necrosis factor) and neurotrophic factors (the nerve growth factor and the brain neurotrophic factor) in the blood serum of white rats under the experimental modeling of “social” stress.

Materials and methods. The experimental studies were carried out on 90 nonlinear white male rats aged 6 months. By the type of behavior, in the process of “social” stress modeling, all the rats were divided into “aggressors” and “victims”. In the study, the following experimental groups (n=10) were formed: control individuals; groups of the rats exposed to stress for 20 days; groups of the animals treated intraperitoneally at the dose of 100 µg/kg/day, starting from the 1st day of the stress factor exposure, with a course of 20 days of glyproline compounds Thr–Lys–Pro–Arg–Pro–Gly–Pro (Selank), Pro–Gly–Pro and Pro–Gly–Pro–Leu. The effect of the compounds on the level of apoptotic and neurotrophic factors was assessed by determining the level of caspase-3, caspase-8, the tumor necrosis factor, the nerve growth factor and the brain neurotrophic factor of white rat blood serum by enzyme immunoassay.

Results. According to the results of the study, it was found out that under the conditions of “social” stress, there was an increase in the apoptotic processes accompanied by an increase in the level of caspase-3, caspase-8, TNF-α in the blood serum of white rats, as well as a decrease in the concentration of neurotrophic factors – BDNF and NGF. The administration of glyproline compounds against the background of stress, contributed to the restoration of the studied indicators level, which is most likely due to the presence of antiapoptotic and neuroprotective effects in glyprolines due to the inhibition of the caspase-dependent cascade of apoptosis reactions, as well as the induction of the synthesis of neurotrophic factors with the antiapoptotic activity.

Conclusion. Thus, the administration of glyproline neuropeptide compounds Thr–Lys–Pro–Arg–Pro–Gly–Pro (Selank), Pro–Gly–Pro and Pro–Gly–Pro–Leu under stress conditions, contributes to the restoration of the initiating and effector caspases level, as well as of neurotrophic factors. As a result of the experiment, an anti-apoptotic effect is observed due to the inhibition of the caspase-dependent cascade of reactions, as well as a stress-protective effect is observed due to the restoration of the brain neurotrophic factors level.

Keywords: glyprolins; neuropeptides; “social” stress; apoptosis; caspases; tumor necrosis factor; brain neurotrophic factor; nerve growth factor

Abbreviations: TNF-α – tumor necrosis factor; NGF – nerve growth factor; BDNF – Brain-derived Neurotrophic Factor; CNS – central nervous system; cIAP – cellular inhibitor of apoptosis proteins.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время особый интерес представляют научные работы, отражающие результаты изучения патологического влияния стрессогенных факторов, в том числе и «социального» стресса, на различные системы организма [1, 2]. Исследования последних лет доказывают тот факт, что длительное воздействие стресса способствует формированию неврологических, иммунных, эндокринных, оксидантных, метаболических и других видов расстройств, что в конечном итоге, приводит к развитию нарушений молекулярно-клеточных механизмов запрограммированной гибели клеток, в том числе и

апоптоза нейронов [3, 4]. На сегодняшний день пристальное внимание уделяется оценке роли апоптотических и нейротрофических факторов в реализации стрессовой реакции.

Наиболее информативными показателями в оценке апоптотических процессов являются инициаторные и эффекторные каспазы, которые активируя друг друга, запускают каспазный каскад [5–7]. Доказано, что при воздействии на организм стресс-факторов активация апоптотических процессов нейронов происходит за счет инициации каспазой-8 эффекторной каспазы-3 [8–10]. Установленный процесс инициации характерен для развития апоптоза в лимфоид-

ных и эндотелиальных клетках, что, в свою очередь, способствует развитию иммунной дисфункции, а также патологии сердечно-сосудистой, мочевыделительной и других систем [11, 12]. Доказано, что в результате воздействия стрессогенных факторов наблюдается развитие каспаза-зависимого апоптоза, что, в еще большей степени, усугубляется накоплением свободных радикалов. Каспаза-зависимый путь – путь «рецепторов смерти», расположенных на поверхности клетки, характерен для неповрежденных клеток; митохондриальный путь, опосредованный семейством белков Bcl-2, характерен для патологически измененных клеток. Путь «рецепторов смерти» регулируется с помощью цитокинов и является более коротким, чем другой путь – опосредованный митохондриями, но функционально оба они тесно связаны друг с другом.

Не менее важным участником апоптотических процессов является фактор некроза опухоли (TNF- α). Установлено, что в результате воздействия стрессовых факторов наблюдается формирование комплекса TNF- α с рецепторами Fas с последующим запуском сигнальных молекул, который активирует каспазу-3 и 8, что приводит к необратимому повреждению нейронов [12]. Доказано, что наряду с выраженной провоспалительной активностью, фактор некроза опухоли способствует увеличению секреции воспалительных медиаторов и индукции апоптоза, за счет связывания с рецепторами на мембране клетки-мишени, в частности с мембранным рецептором TNF-R2 [13, 14]. При этом происходит инактивация молекул TRAF2, которые, в свою очередь, поддерживают процесс запуска белков-ингибиторов апоптоза cIAP. Кроме того, TNF- α вызывает гибель клеток по механизму некроза, способствуя образованию активных форм кислорода, вызывающих деструкцию мембран и гибель клетки-мишени. Вышеперечисленное позволяет отнести данный цитокин к одному из важных участников апоптоза. Доказано, что фактор некроза опухоли играет важную роль в патогенезе таких заболеваний, как инфаркт миокарда, хронической почечной недостаточности, бронхиальной астмы [14], а также выявлено его иницирующее влияние на развитие аутоиммунной патологии [13]. Установлено, что фактор некроза опухоли повышен у пациентов с психоневрологическими и нейродегенеративными заболеваниями, а также травматическими повреждениями головного мозга [15].

При рассмотрении нейротрофиновой гипотезы развития различных патологических нарушений, в том числе апоптоза, таким нейротрофическим факторам, как фактор роста нервов и нейротрофический фактор мозга, обладающим выраженной нейроспецифичностью, отводится важное значение в проявлении нейропротекторного действия. Данное действие реализуется за счет способности нейротрофических факторов к индукции синтеза антиапоптотических

белков и ингибированию проапоптотических, оказывая влияние тем самым на выживаемость и дифференцировку отдельных популяций нейронов. В ряде работ отражена прямая зависимость апоптоза от баланса NGF и BDNF, которые активируя рецепторы тирозинкиназ, оказывают нейропротекторное действие [16–18].

Установлено, что фактор роста нервов привлекает внимание ученых в качестве перспективного средства лечения различных психоневрологических заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и депрессия [19]. Результаты исследований, полученные в последнее время, указывают на то, что наряду с непосредственным влиянием на нервную систему, NGF оказывает многофакторное воздействие на организм [20–22]. Фактор роста нервов играет ключевую роль в регуляции процессов регенерации, что обусловлено влиянием на механизмы поддержания гомеостаза, воспаления, пролиферации и ремоделирования тканей. Доказана способность фактора роста нервов к индукции высвобождения иммуноактивных нейропептидов и нейротрансмиттеров, а также к влиянию на врожденные и адаптивные иммунные реакции [20, 21]. Следует отметить, что уровень экспрессии нейротрофического фактора головного мозга отражает эффективность лечения гипоксически-ишемических, травматических и токсических поражений ЦНС [22]. Установлено также, что уровень сывороточного BDNF имеет отрицательную корреляционную связь со степенью выраженности тревожных расстройств и даже в ряде случаев определяет развитие нейродегенеративных процессов [23, 24].

Таким образом, апоптотические и нейротрофические факторы играют роль активных участников в реализации адаптационных механизмов к стрессовым воздействиям различного генеза и определяют перспективность рассмотрения их в качестве мишени для фармакологических средств со стресспротекторной активностью [24].

В настоящее время особый интерес вызывают нейропептидные соединения, обладающие разносторонней фармакологической активностью, в том числе и стресспротекторной [25]. На основе нейропептидов синтезируется большое количество высокоэффективных и безопасных лекарственных препаратов [26]. Следует отметить, что нейропептиды способны проникать через гематоэнцефалический барьер и оказывать фармакологическое действие в минимальных концентрациях [27]. Пептидные препараты, являясь модуляторами физиологических процессов, способны контролировать экспрессию клеточных мессенджеров и цитокинов, оказывая тем самым влияние на запуск апоптотических процессов в нервной системе и выполняя функцию антиапоптотической защиты [28]. На сегодняшний день в ряду пептидных соединений в отдельную группу выделены регуляторные пептиды глипролиновой природы

[29], самым значимым представителем которых является зарегистрированный лекарственный препарат Селанк (Товарный знак №199370), синтезированный учеными Института молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» с помощью присоединения Pro-Gly-Pro к C-концам тафтсина, первоначально используемого в качестве иммуномодулятора [30]. В практической медицине Селанк применяется с целью улучшения мнестических функций [31], оказывая антиастеническое, адаптогенное, противогипоксическое [32] и актопротекторное воздействие [33]. В настоящее время отечественными учеными ведущих научных организаций детально изучается фармакологическое действие глипролинов [27–35]. Установлено, что данный класс пептидов способен предотвращать атеросклеротические процессы и уменьшать тромбообразование за счет активации фибринолитического и антикоагулянтного механизма [33]. В исследованиях показано, что глипролиновые пептиды оказывают гепатотропное действие [34]. Результаты ряда экспериментальных данных продемонстрировали гипогликемическую и гиполипидемическую активность указанных соединений [27]. Существенный интерес с позиции перспективного терапевтического агента представляет и сам трипептид Pro-Gly-Pro, который обладает выраженной физиологической активностью [30]. Многочисленными работами установлено, что уникальность глипролиновых нейропептидов заключается в их плейотропности, а именно в сочетании психо- [25], нейро- [35], ноотропных эффектов [26]. Доказано наличие иммунотропной активности глипролинов [36], что подтверждается их участием в индукции различных нейротрофических факторов, про- и противовоспалительных цитокинов, и регуляции процессов апоптоза [34, 35]. Вышеописанные свойства актуализируют необходимость детального изучения фармакологического действия нейропептидов глипролиновой структуры.

ЦЕЛЬ. Изучить влияние глипролиновых нейропептидных соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu на уровень апоптотических (каспаза-3, каспаза-8 и фактор некроза опухоли) и нейротрофических (фактор роста нервов и нейротрофический фактор головного мозга) факторов в сыворотке крови белых крыс в условиях экспериментального моделирования «социального» стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лабораторные исследования

Исследование проводили на 90 белых крысах-самцах 6-месячного возраста, полученных из вивария лаборатории физиологии, морфологии, генетики и биомедицины ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет» Минздрава России (Россия, Астрахань). Содержание лабораторных животных отвечало требованиям нормативной доку-

ментации^{1,2,3}. Эксперимент проводился на основании протокола Этического комитета ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России № 8 от 24 ноября 2015 г.

Экспериментальная модель

Модель «социального» стресса реализовывалась путем обеспечения условий проживания крыс при наличии сенсорного контакта и отсутствии физического с последующим формированием агрессивного и субмиссивного типа поведения [35] при размещении животных попарно в клетках, разделенных прозрачной перегородкой. С целью наблюдения за межсамцовыми конфронтациями ежедневно на 10 мин снимали перегородку, по результатам чего были сформированы группы крыс «агрессоров» и «жертв». Агрессивность крыс оценивалась по наличию вертикальных и боковых стоек и атаки, а субмиссивность – по наличию неподвижности, обнюхивания, аутогруминга, вертикальных «защитных» стоек [37–39].

Экспериментальные группы

В исследовании формировались экспериментальные группы (n=10): контрольные особи; животные, в течение 20 дней подвергавшиеся воздействию стресса; группы крыс, получавших внутрибрюшинно в дозе 100 мкг/кг/сут, начиная с 1-го дня воздействия стресс-фактора, курсом 20 дней глипролиновые соединения Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu.

Выбор дозы глипролиновых соединений основан на предварительном изучении выраженности психофизиологического эффекта путем оценки поведенческих реакций с помощью психофармакологических установок. Исследования проводили при введении глипролиновых соединений в дозах 25, 50, 100 и 200 мкг/кг/сут. Было установлено, что наибольшую активность глипролины проявляли в дозировках 100 и 200 мкг/кг/сут. В связи с чем, в качестве экспериментальной дозы в дальнейшем была выбрана наименьшая – 100 мкг/кг/сут.

Методы

Влияние нейропептидов глипролиновой структуры на уровень каспазы-3, каспазы-8, фактора некроза опухоли, нейротрофического фактора мозга и фактора роста нервов в сыворотке крови белых крыс оценивали методом иммуноферментного анализа с использованием иммунологического анализатора «Multiscan FC» и применением высокочувствительных наборов

¹ Директива Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях (2010/63/EU). – Изд-во: Санкт-Петербург, 2012. – 50 с.

² «Международная конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986).

³ Приказ Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики».

ELISA Kit for Caspase-8 (США); ELISA Kit for Caspase-3 (США); ELISA Kit for Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) (США), ELISA Kit for Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) (США); ELISA Kit for Nerve Growth Factor (NGF) (США). Сыворотку перед использованием выдерживали при комнатной температуре в течении двух часов, центрифугировали 20 минут при 1000 об/мин, далее немедленно подвергали анализу. Выбор данного вида биологического материала сделан на основании анализа литературных данных [40, 41].

Статистическая обработка результатов

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакетов программ Microsoft Office Excel 2007, BIostat 2008 Professional 5.8.4.3 с учетом критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми различия считали при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, отражающие влияние глипролинов на уровень каспаз-3 и 8 в сыворотке крови белых крыс в условиях «социального» стресса, представлены в таблице 1.

При формировании «социального» стресса у животных с агрессивным типом поведения уровень каспазы-3 увеличился в 1,8 раза ($p \leq 0,01$) по отношению к контролю. При введении глипролиновых нейропептидных соединений было отмечено снижение исследуемого показателя: при Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк) – в 1,6 раза ($p \leq 0,01$), Pro-Gly-Pro – в 1,5 раза ($p \leq 0,01$) и Pro-Gly-Pro-Leu – в 1,3 раза ($p \leq 0,01$) в сравнении с группой стресса.

В группе стрессированных животных с субмиссивным типом поведения уровень каспазы-3 увеличился на 60% ($p \leq 0,01$) по отношению к контрольной группе животных. При введении Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк) отмечалось снижение показателя на 50% ($p \leq 0,01$), Pro-Gly-Pro – на 29% ($p \geq 0,05$) и Pro-Gly-Pro-Leu – на 10% ($p \geq 0,05$) в сравнении с группой «социального» стресса.

Формирование «социального» стресса привело к увеличению уровня каспазы-8 в 2,6 раза ($p \leq 0,01$) в сравнении с контрольной группой крыс. Введение глипролиновых соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu способствовало снижению данного показателя в 2,2 раза ($p \leq 0,01$), в 1,7 ($p \leq 0,01$) и в 1,5 раза ($p \geq 0,01$) соответственно по отношению к группе стрессированных животных.

Уровень каспазы-8 в группе стрессированных животных с субмиссивным типом поведения увеличился в 2,4 раза ($p \leq 0,01$) по отношению к интактным животным. Введение глипролиновых нейропептидных соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu способствовало снижению уровня изучаемого показателя в 1,9 ($p \leq 0,01$), в 2,4 ($p \leq 0,01$) и 1,3 раза ($p \geq 0,01$) соответственно по сравнению с группой «социального» стресса.

В таблице 2 представлены результаты, отражающие влияние нейропептидов глипролиновой структуры на уровень TNF- α в сыворотке крови белых крыс в условиях «социального» стресса.

Формирование «социального» стресса у животных с агрессивным типом поведения привело к увеличению уровня фактора некроза опухоли на 45% ($p \leq 0,01$) в сравнении с контрольной группой. На фоне введения глипролиновых соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu было отмечено снижение данного показателя на 30% ($p \leq 0,01$), 25% ($p \leq 0,01$) и 22% ($p \leq 0,05$) соответственно по отношению к группе стрессированных особей.

В группе крыс с субмиссивным типом поведения при формировании стресса уровень TNF- α увеличился на 52% ($p \leq 0,01$) в сравнении с контролем. Соединения Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu вызвали снижение данного показателя на 33% ($p \leq 0,01$), 22% ($p \leq 0,05$) и 23% ($p \leq 0,05$) по отношению к группе «социального» стресса.

На рисунке 1 показаны результаты, отражающие влияние глипролинов на уровень NGF в сыворотке крови белых крыс в условиях «социального» стресса.

В группе животных с «социальным» стрессом и агрессивным типом поведения наблюдалось снижение уровня NGF на 40% ($p \leq 0,01$) в сравнении с интактными крысами. При введении глипролинов Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu было отмечено повышение уровня исследуемого фактора на 40% ($p \leq 0,01$); 20% ($p \leq 0,05$) и 17% ($p \leq 0,05$) соответственно в сравнении с группой «социального» стресса.

Формирование «социального» стресса в группе животных с субмиссивным типом поведения привело к снижению уровня NGF более чем на 30% ($p \leq 0,01$) в сравнении с контрольной группой. На фоне введения глипролинов (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu) было отмечено повышение уровня фактора роста нервов на 56% ($p \leq 0,01$), 36% ($p \leq 0,01$) и 29% ($p \leq 0,01$) соответственно по сравнению с группой «социальный» стресс.

На рисунке 2 представлены результаты, отражающие влияние глипролинов на уровень нейротрофического фактора BDNF в сыворотке крови белых крыс в условиях «социального» стресса.

В группе стрессированных животных с агрессивным типом поведения было отмечено снижение уровня нейротрофического фактора головного мозга на 40% ($p \leq 0,01$) в сравнении с контрольной группой. Соединения Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu увеличивали уровень мозгового нейротрофического фактора по отношению к стрессированной группе животных на 45% ($p \leq 0,01$); 26% ($p \leq 0,05$) и 24% ($p \leq 0,05$) соответственно.

Таблица 1 - Уровень каспазы-3 и каспазы-8 в сыворотке крови белых крыс в условиях экспериментального «социального» стресса под влиянием нейропептидов глипролиновой структуры

Группы экспериментальных животных	Каспаза 3 (пг/мл)	Каспаза 8 (пг/мл)
Контроль	17,41±1,22	2,33±0,91
Животные с агрессивным типом поведения		
«Социальный» стресс	30,62±2,13**	6,14±1,21**
«Социальный» стресс + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк)	19,22±2,01##	2,78±0,76##
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro	20,61±2,23##	3,65±0,56#
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro-Leu	23,76±2,14##	3,98±0,82
Животные с субмиссивным типом поведения		
«Социальный» стресс	27,83±2,21**	5,64±0,87**
«Социальный» стресс + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк)	18,67±1,21##	2,96±0,89#
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro	22,57±2,13	2,36±0,81##
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro-Leu	25,43±2,87	4,36±0,99

Примечание: ** – $p \leq 0,01$ – относительно контроля; #, ## – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – относительно группы «социальный» стресс.

Таблица 2 – Уровень TNF- α в сыворотке крови белых крыс в условиях экспериментального «социального» стресса под влиянием нейропептидов глипролиновой структуры

Группы экспериментальных животных	TNF- α (пг/мл)
Контроль	78,65 ±6,8
Животные с агрессивным типом поведения	
«Социальный» стресс	113,83±8,2**
«Социальный» стресс + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк)	79,32±6,8##
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro	85,60±8,1##
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro-Leu	88,77±7,4#
Животные с субмиссивным типом поведения	
«Социальный» стресс	119,35±7,8**
«Социальный» стресс + Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк)	79,87±6,5##
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro	93,15±8,6#
«Социальный» стресс + Pro-Gly-Pro-Leu	91,77±8,2#

Примечание: *, ** – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – относительно контроля; #, ## – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – относительно группы «социальный» стресс.

В группе стрессированных крыс с субмиссивным типом поведения было отмечено снижение уровня BDNF на 45% ($p \leq 0,01$) в сравнении с контрольными животными.

При введении глипролиновых соединений также отмечались изменения уровня исследуемого нейротрофического фактора в виде его статистически значимого повышения ($p \leq 0,01$): на фоне Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк) – на 52%, Pro-Gly-Pro – 35% и Pro-Gly-Pro-Leu – на 32% по отношению к группе животных, подверженных воздействию «социального» стресса.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе настоящего исследования было установлено, что «социальный» стресс сопровождается сни-

жением уровня нейротрофического фактора мозга и фактора роста нервов, что связано с изменением нейропластичности с последующим угнетением нейрогенеза. В ряде экспериментальных работ доказано, что BDNF обладает выраженными нейропротекторными свойствами, способствуя угнетению клеточного апоптоза, препятствуя, в свою очередь, гибели нейронов и стимулируя рост холинергических нервных волокон [42, 43]. Установлено, что в условиях «социального» стресса наряду со снижением уровней нейротрофических факторов наблюдается повышение уровней каспазы-3 и каспазы-8, а также фактора некроза опухоли сыворотки крови белых крыс. Такая вариабельность указанных показателей, согласно данным литературы [44, 45], свидетельствует об усилении апоптотических процессов.

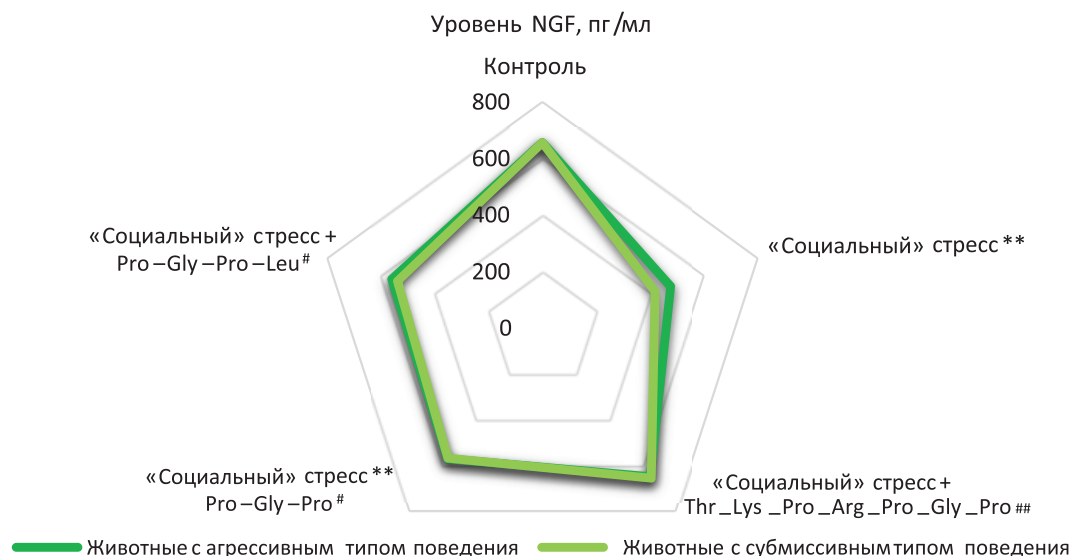


Рисунок 1 – Уровень фактора роста нервов в сыворотке крови белых крыс в условиях экспериментального «социального» стресса под влиянием нейропептидов глипролиновой структуры

Примечание: ** – $p \leq 0,01$ – относительно контроля; #; ### – $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ – относительно группы «социальный» стресс

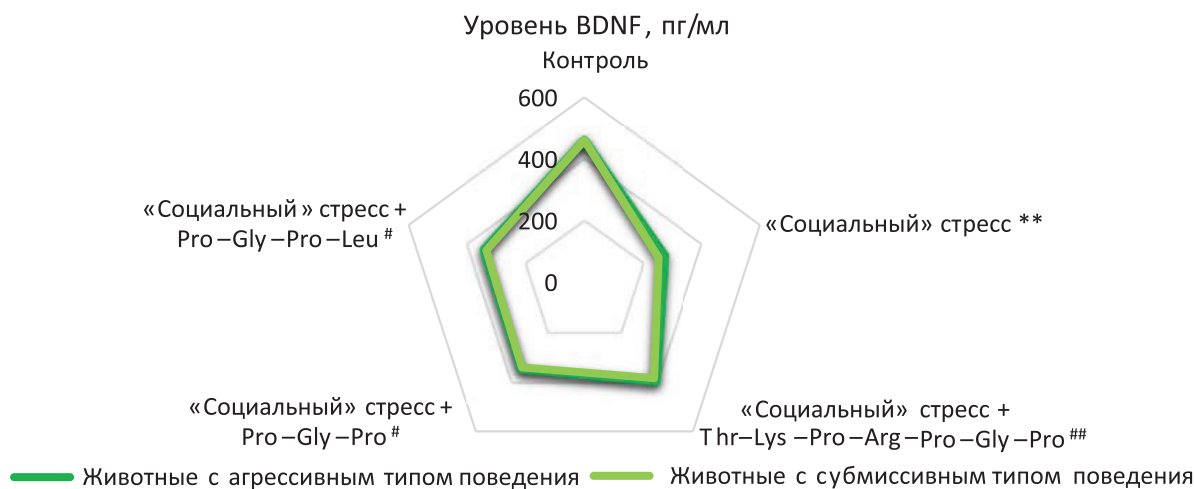


Рисунок 2 – Уровень нейротрофического фактора головного мозга в сыворотке крови белых крыс в условиях экспериментального «социального» стресса под влиянием нейропептидов глипролиновой структуры

Примечание: ** – $p \leq 0,01$ – относительно контроля; # – $p \leq 0,05$ относительно группы «социальный стресс»; ### – $p \leq 0,01$ – относительно группы «социальный стресс».

Существенная роль нейротрофических факторов в индукции или торможении апоптоза доказана и в других экспериментальных работах. Установлено, что NGF тормозит апоптоз при ряде нейродегенеративных заболеваний [20]. Кроме того, доказано, что фактор роста нервов и нейротрофический фактор головного мозга реализуют свое действие как непосредственно, так и через генетические механизмы индукции апоптотических процессов [5]. В противоположность ряд цитокинов, в частности человеческие интерфероны и фактор некроза опухоли, предположительно, оказывают стимулирующее действие на апоптоз [9], что также нашло подтверждение в наших экспериментах ранее [36].

Снижение экспрессии нейротрофических факторов в результате стрессогенных воздействий различной природы и восстановление его уровня продол-

жительным введением средств коррекции привели к созданию нейротрофической гипотезы развития стресс-индуцированной депрессии. Согласно данной концепции изменение уровня нейротрофических факторов является ключевым механизмом формирования и разработки подходов к лечению подобных нарушений [17]. Данный факт подтверждается установленным снижением уровня фактора роста нервов и нейротрофического фактора мозга при формировании депрессивного состояния и повышением: в процессе фармакотерапии, а также положительной корреляцией уровней со степенью улучшения состояния [7]. Доказано, что эффективность антидепрессивной и стресс-протекторной терапии достигается за счет их воздействия лекарственных препаратов на интенсивность процессов нейрогенеза и нейрональную

пластичность [24]. Установленная корректирующая активность глипролиновых нейропептидов в отношении уровня нейротрофических факторов при «социальном» стрессе, согласно литературным данным [25], свидетельствует о проявлении Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu выраженных антистрессорных и нейропротекторных эффектов.

Наряду с этим, установлено, что введение глипролиновых нейропептидных соединений Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu на фоне «социального» стресса способствует снижению уровня апоптотических показателей – каспазы-3, каспазы-8 и фактора некроза опухоли, что опосредовано возможным ингибированием каспаза-зависимого каскада реакций разрушения клеточных структур путем гидролиза ядерной ламины, расщепления адгезивных белков и разрушения цитоскелета. В случае каспаза-зависимого пути сигналом к началу реализации запрограммированной гибели нейроцитов являются патогенетические пути, формируемые при воздействии гипоксии, агентами различной природы (стрессогенными, физическими или химическими и т.д.) [10, 11]. Данный путь, наряду с каспазами, реализуется за счет связывания фактора некроза опухоли с рецепторами на мембране клетки-мишени. Ранее было доказано наличие антиоксидантного действия и способность нейропептидов влиять на уровень про- и противовоспалительных цитокинов [46]. Установлено, что нейропептидные соединения в условиях «социального» стресса вызывают выраженное ингибирование процессов свободнорадикального окисления и снижают концентрацию провоспалительных цитокинов таких как IL-1 β , IL-6 и TNF- α [46, 47]. На основании

полученных результатов можно сделать вывод о наличии у глипролинов антиапоптотического действия за счет влияния на уровень каспаз, концентрацию провоспалительных цитокинов и ингибирование процессов перекисного окисления липидов.

Регуляция апоптотических и нейротрофических процессов сложна, в ней задействованы различные цитокины в рамках большого количества сигнальных каскадов, что требует дальнейшего детального изучения [48, 49].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в настоящее время пристальное внимание уделяется оценке роли апоптотических и нейротрофических факторов в реализации стрессовой реакции. В связи с чем эффекторная каспаза-3 и иницирующая каспаза-8, фактор некроза опухоли, а также нейротрофические факторы (фактор роста нервов и нейротрофический фактор головного мозга) активно изучаются как мишени действия стресспротекторных препаратов нейропептидной структуры при различных патологических состояниях, в том числе вызванных длительным воздействием стрессогенных факторов. Проведенное исследование установило наличие у Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (Селанк), Pro-Gly-Pro и Pro-Gly-Pro-Leu антиапоптотической активности за счет ингибирования каспаза-зависимого каскада реакций апоптоза. Наряду с этим, определено выраженное стресс-протекторное действие за счет восстановления уровня нейротрофических факторов мозга. Полученные результаты актуализируют дальнейшее детальное изучение каспаза-зависимого и опосредованного нейротрофическими факторами механизма антистрессорного эффекта глипролинов.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант РФФИ № 19-04-00461.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.Л. Ясенявская – сбор литературных данных, написание текста, постановка эксперимента, анализ полученных результатов, подготовка черновика рукописи; А.А. Цибизова – сбор литературных данных, постановка эксперимента, оценка результатов, обоснование и статистическая обработка полученных данных, подготовка черновика рукописи; Л.А. Андреева – синтез соединений, планирование исследования, редактирование рукописи, оценка полученных результатов; Н.Ф. Мясоедов – синтез соединений, планирование исследования, редактирование рукописи, оценка полученных результатов; окончательное утверждение для публикации рукописи; О.А. Башкина – планирование исследования, редактирование рукописи, оценка полученных результатов, окончательное утверждение для публикации рукописи; М.А. Самотруева – разработка концепции и дизайна исследования, планирование исследования, постановка эксперимента, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Benham G., Charak R. Stress and sleep remain significant predictors of health after controlling for negative affect // *Stress Health*. – 2019. – Vol. 35, No.1. – P. 59–68. DOI: 10.1002/smi.2840.
- Cohen, S. Gianaros P.J., Manuck S.B. A Stage Model of Stress and Disease // *Perspect. Psychol. Sci.* – 2016. – Vol. 11, No.4. – P. 456–463. DOI: 10.1177/1745691616646305.
- Magariños A.M., Schaafsma S.M., Pfaff D.W. Impacts of stress on reproductive and social behaviors // *Front Neuroendocrinol.* – 2018. – Vol. 49. – P. 86–90. DOI: 10.1016/j.yfrne.2018.01.002.
- O'Connor D. B., Thayer J.F., Vedhara K. Stress and Health: A Review of Psychobiological Processes // *Annu. Rev. Psychol.* – 2021. – Vol. 72. – P. 663–688. DOI: 10.1146/annurev-psych-062520-122331.
- Майборода А.А. Апоптоз: гены и белки // *Сибирский медицинский журнал*. – 2013. – № 3. – С. 130–135.
- Obeng E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals – A review // *Braz. J. Biol.* – 2021. – Vol. 81, No.4. – P. 1133–1143. DOI: 10.1590/1519-6984.228437.
- Park C. Rosenblat J.D., Brietzke E., Pan Z., Lee Y., Cao B., Zuckerman H., Kalantarova A., McIntyre R.S. Stress, epigenetics and depression: A systematic review // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2019. – Vol. 102. – P. 139–152. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2019.04.010.
- Дятлова А.С., Дудков А.В., Линькова Н.С., Хавинсон В.Х. Молекулярные маркеры каспаза-зависимого и митохондриального апоптоза: роль в развитии патологии и в процессах клеточного старения // *Успехи современной биологии*. – 2018. – Т. 138, № 2. – С. 126–137. DOI: 10.7868/S0042132418020023.
- D'Arcy M.S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy // *Cell Biology International*. – 2019. – Vol. 43, No.6. – P. 582–592. DOI: 10.1002/cbin.11137.
- Jacotot, É. Caspase inhibition: From cellular biology and thanatology to potential clinical agents // *Médecine sciences (Paris)*. – 2020. – Vol. 36, No.12. – P. 1143–1154. DOI: 10.1051/medsci/2020222.
- Munoz-Pinedo C., López-Rivas A. A role for caspase-8 and TRAIL-R2/DR5 in ER-stress-induced // *Cell Death Differ.* – 2018. – Vol. 25. – Art. No. 226. DOI: 10.1038/cdd.2017.155.
- Kumar S. Caspase function in programmed cell death // *Cell Death Differ.* – 2007. – Vol. 14. – P. 32–43. DOI: 10.1038/sj.cdd.4402060.
- Левитан Б.Н. Связь концентраций антиэндотоксиновых антител и фактора некроза опухолей с патологией гемостаза и фибринолиза при хронических гепатитах и циррозах печени / Б.Н. Левитан // *Тромбоз, гемостаз и реология*. – 2017. – № 4. – С. 70–74. DOI: 10.25555/THR.2017.4.0813.
- Тополянская С. В. Фактор некроза опухоли-альфа и возраст-ассоциированная патология / С. В. Тополянская. // *Архив внутренней медицины*. – 2020. – Т. 10, № 6. – С. 64–70. DOI: 10.20514/2226-6704-2020-10-6-414-421.
- Воронина Е.В., Лобанова Н.В., Яхин И.Р., Романова Н.А., Серегин Ю.А. Роль фактора некроза опухолей-альфа в иммунопатогенезе заболеваний различной этиологии и его значимость в развитии антицитокиновой терапии моноклональными антителами // *Медицинская иммунология*. – 2018. – Т. 20, № 6. – С. 797–806. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-6-797-806.
- Xu X., Lai Y., Hua Z.C. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials // *Biosci. Rep.* – 2019. – Vol. 39, No.1. – Art. No. BSR20180992. DOI: 10.1042/BSR20180992.
- Кузник Б.И., Давыдов С.О., Ланда И.В. Фактор роста нервов (NGF) и его роль в условиях нормы и патологии // *Успехи физиологических наук*. – 2019. – Т. 50, № 4. – С. 64–80. DOI: 10.1134/S0301179819040052.
- Santucci D. When Nerve Growth Factor Met Behavior / D. Santucci, A. Racca, E. Alleva // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2021. – Vol. 1331. – P. 205–214. DOI: 10.1007/978-3-030-74046-7_13.
- Крыжановская С.Ю., Запара М.А., Глазачев О.С. Нейротрофины и адаптация к средовым стимулам: возможности расширения «терапевтического потенциала» (краткий обзор) // *Вестник международной академии наук. Русская секция*. – 2020. – № 1. – С. 36–43.
- Левчук Л.А., Вялова Н.М., Михалицкая Е.В., Семкина А.А., Иванова С.А. Роль BDNF в патогенезе неврологических и психических расстройств // *Современные проблемы науки и образования*. – 2018. – № 6. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28267>.
- Острова И.В., Голубева Н.В., Кузовлев А.Н., Голубев А.М. Прогностическая значимость и терапевтический потенциал мозгового нейротрофического фактора BDNF при повреждении головного мозга (обзор) // *Общая реаниматология*. – 2019. – Том 15, № 1. – С. 70–86. DOI: 10.15360/1813-9779-2019-1-70-86.
- Brigadski T., Lebmann V. The physiology of regulated BDNF release // *Cell and Tissue Research*. – 2020. – Vol. 382, No.1. – P. 15–45. DOI: 10.1007/s00441-020-03253-2.
- Cohen S., Gianaros P.J., Manuck S.B. A Stage Model of Stress and Disease // *Perspectives on Psychological Science*. – 2016. – Vol. 11, No. 4. – P. 456–463. DOI: 10.1177/1745691616646305.
- Duman R.S., Deyama S., Fogaça M.V. Role of BDNF in the pathophysiology and treatment of depression: Activity-dependent effects distinguish rapid-acting antidepressants // *Eur. J. Neurosci.* – 2021. – Vol. 53, No.1. – P. 126–139. DOI: 10.1111/ejn.14630.
- Carr R., Frings S. Neuropeptides in sensory signal processing // *Cell Tissue Res.* – 2019. – Vol. 375, No.1 – P. 217–225. DOI: 10.1007/s00441-018-2946-3
- Канунникова Н.П. Нейропротекторные свойства нейропептидов // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2017. – Т. 15, №5. – P. 492–498. DOI: 10.25298/2221-8785-2017-15-5-492-498.
- Маркелова Е.В., Зенина А.А., Кадыров Р.В. Нейропептиды как маркеры повреждения головного мозга / Е.В. Маркелова, // *Современные проблемы науки и образования*. – 2018. – № 5. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28099>.
- Тепляшина Е.А., Оловяникова Р.Я., Харитоновна Е.В., Лопатина О.Л., Кутяков В.А., Пашенко С.И., Салмина А.Б. Нейропептиды в регуляции активности головного мозга в норме и при нейродегенерации // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2020. – Т. 23, № 8. – С. 3–10. DOI: 10.29296/25877313-2020-08-01.
- Надорова А.В., Колик Л.Г. Экспериментальное изучение влияния пептидного анксиолитика селанка на когнитивные функции, нарушенные при остром и хроническом действии этанола // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2018. – Т. 81, № 5s. – С. 168–168. DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-5s-168-168.
- Королева С.В., Мясоедов Н.Ф. Семакс – универсальный препарат для терапии и исследований // *Известия Российской академии наук. Серия биологическая*. – 2018. – № 6. – С. 669–682.
- Tajti J., Szok D., Majláth Z., Tuka B., Csáti A., Vécsei L. Migraine and neuropeptides // *Neuropeptides*. – 2015. – Vol. 52. – P. 19–30. DOI: 10.1016/j.npep.2015.03.006.
- Вербенко В. А., Шакина Т. А. Особенности анксиолитического и стрессопротективного действия пептидного препарата Селанк® при терапии расстройств адаптации и посттравматического стрессового расстройства

- ства // Медицинский алфавит. – 2017. – Т. 3, №. 32. – С. 21–26.
33. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Оберган Т.Ю., Майстренко Е.С. Роль пептидов тафцина и селанка в регуляции первичного и плазменного гемостаза // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2017. – Т. 44, №2. – С. 228–230. DOI: 10.7868/S0002332917020126.
 34. Муронец Е.М., Донской Д.Н., Плетень А.П. Нейропептиды (обзор) // Концепции фундаментальных и прикладных научных исследований: сборник статей Международной научно-практической конференции (20 мая 2018 г., г. Оренбург). Ч. 3. – Уфа, 2018. – С. 135–139.
 35. Vyunova T.V., Andreeva L.A., Shevchenko K.V., Myasoedov N.F. An integrated approach to study the molecular aspects of regulatory peptides biological mechanism // Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals. – 2019. – Vol. 62, No.12. – P. 812–822. DOI: 10.1002/jlcr.3785.
 36. Samotrueva M.A., Yasenyavskaya A.L., Murtalieva V.K., Bashkina O.A., Myasoedov N.F., Andreeva L.A., Karaulov A.V. Experimental substantiation of application of Semax as a modulator of immune reaction on the model of “social” stress // Bull. Exp. Biol. Med. – 2019. – Vol. 166, No.6. – P. 754–758. DOI: 10.1007/s10517-019-04434-y.
 37. Кудрявцева Н.Н. Серотонергический контроль агрессивного поведения: новые подходы – новые интерпретации (обзор) // Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. – 2015. – Т. 65, № 5. – С. 546–563. DOI: 10.7868/S0044467715050081.
 38. Avgustinovich D.F., Kovalenko I.L., Kudryavtseva N.N. A model of anxious depression: persistence of behavioral pathology // Neurosci. Behav. Physiol. – 2005. – Vol. 35, No.9. – P. 917–924. DOI: 10.1007/s11055-005-0146-6.
 39. Koolhaas J.M., de Boer S.F., Buwalda B., Meerlo P. Social stress models in rodents: Towards enhanced validity // Neurobiol. Stress. – 2017. – Vol. 6. – P. 104–112. DOI: 10.1016/j.ynstr.2016.09.003.
 40. Bharani K.L., Ledreux A., Gilmore A., Carroll S.L., Granholm A.C. Serum pro-BDNF levels correlate with phospho-tau staining in Alzheimer’s disease // Neurobiol. Aging. – 2020. – Vol. 87. – P. 49–59. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2019.11.010.
 41. Sun D.B., Xu M.J., Chen Q.M., Hu H.T. Significant elevation of serum caspase-3 levels in patients with intracerebral hemorrhage // Clin. Chim. Acta. – 2017. – Vol. 471. – P. 62–67. DOI: 10.1016/j.cca.2017.05.021.
 42. Chakrapani S., Eskander N., De Los Santos L.A., Omisore B.A., Mostafa J.A. Neuroplasticity and the Biological Role of Brain Derived Neurotrophic Factor in the Pathophysiology and Management of Depression // Cureus. – 2020. – Vol. 12, No.11. – Art. No. e11396. DOI: 10.7759/cureus.11396.
 43. Colucci-D’Amato L., Speranza L., Volpicelli F. Neurotrophic Factor BDNF, Physiological Functions and Therapeutic Potential in Depression, Neurodegeneration and Brain Cancer // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21, No. 20, Art. No. 7777. DOI: 10.3390/ijms21207777.
 44. Lorente L., Martín M.M., Pérez-Cejas A., González-Rivero A.F., Argueso M., Ramos L., Solé-Violán J., Cáceres J.J., Jiménez A., García-Marín V. Serum caspase-3 levels during the first week of traumatic brain injury // Med. Intensiva. (Engl Ed). – 2021. – Vol. 45, No.3. – P. 131–137. DOI: 10.1016/j.medin.2019.09.005.
 45. Ge N., Westbrook R., Langdon J., Yang H., Marx R., Abadir P., Xue Q.L., Walston J.D. Plasma levels of corticosterone, tumor necrosis factor receptor 1 and interleukin 6 are influenced by age, sex and chronic inflammation in mice treated with acute temperature stress // Exp. Gerontol. – 2020. – Vol. 142. – Art. No.111136. DOI: 10.1016/j.exger.2020.111136.
 46. Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Влияние семакса на уровень интерлейкина-1β в условиях «социального» стресса // Медицинский академический журнал. – 2019. – Т. 19, № 1S. – С. 192–194. DOI: 10.17816/MAJ191S1192-194.
 47. Ясенявская А.Л., Самотруева М.А., Цибизова А.А., Мясоедов Н.Ф., Андреева Л.А. Влияние глипропинов на перекисное окисление липидов в гипоталамической и префронтальной областях головного мозга в условиях «социального» стресса // Астраханский медицинский журнал. – 2020. – Т. 15, №3. – С. 79–85. DOI: 10.17021/2020.15.3.79.85.
 48. Fricker L.D. Carboxypeptidase E and the identification of novel neuropeptides as potential therapeutic targets // Adv. Pharmacol. – 2018. – Vol. 82. – P. 85–102. DOI: 10.1016/bs.apha.2017.09.001.
 49. Thiele T.E. Neuropeptides and Addiction: An Introduction // Int. Rev. Neurobiol. – 2017. – Vol. 136. – P. 1–3. DOI: 10.1016/bs.irn.2017.07.001.

АВТОРЫ

Ясенявская Анна Леонидовна – кандидат медицинских наук, доцент, руководитель Научно-исследовательского центра, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-2998-2864. E-mail: yasen_9@mail.ru

Цибизова Александра Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-9994-4751. E-mail: sasha3633@yandex.ru

Андреева Людмила Александровна – руководитель сектора, ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт». ORCID ID: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Мясоедов Николай Федорович – доктор химических наук, профессор, академик РАН, руководитель отдела, ФГБУ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт». ORCID ID: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru.

Башкина Ольга Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской педиатрии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4168-4851. E-mail: bashkina1@mail.ru

Самотруева Марина Александровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-5336-4455. E-mail: ms1506@mail.ru

УДК615.19+615.12



АНАЛИЗ СИСТЕМНОЙ ГОТОВНОСТИ ПЕРСОНАЛА К ИЗМЕНЕНИЯМ НА ПРИМЕРЕ ЭКСПОРТНО ОРИЕНТИРОВАННОГО БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ

Е.В. Казакова^{1,2}, В.П. Трухин^{1,2}, И.А. Наркевич², И.И. Басакина²

¹ Федеральное государственное унитарное предприятие «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов»

Федерального медико-биологического агентства

198320, Россия, Санкт-Петербург, г. Красное Село, ул. Свободы, д. 52

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14

E-mail: e.v.kazakova@spbniivs.ru

Получена 07.09.2021

После рецензирования 30.11.2021

Принята к печати 03.12.2021

Биотехнологическая промышленность на сегодняшний день является одним из наиболее динамично развивающихся секторов фармацевтической отрасли, поэтому требует совершенствования системы управления персоналом, направленной на повышение гибкости и адаптивности организации.

Цель. Определение степени готовности сотрудников организации к инновациям на примере экспортно ориентированного биотехнологического предприятия.

Материалы и методы. Первичная информация была собрана методом анкетирования сотрудников биотехнологического предприятия. Репрезентативная выборка составила 588 респондентов. Статистическая обработка данных проводилась с использованием специализированной программы IBM SPSS STATISTICS (IBM, USA, 2017). В определении системной готовности сотрудников организации к инновациям использовалась методика И.О. Загашева. С целью оценки надежности психологического теста применялась модель внутренней согласованности с использованием коэффициента Альфа Кронбаха. Проверка статистических гипотез в рамках сравнения центральных тенденций двух независимых выборок проводилась с использованием критерия Стьюдента и непараметрического метода Манна-Уитни.

Результаты. Результаты распределения ключевых мотивирующих факторов для персонала показали, что лидирующие позиции заняли такие мотивационные факторы, как достойная заработная плата и стабильная работа, однако оценка системной готовности сотрудников к инновациям по методике И.О. Загашева указывает на высокую степень готовности персонала к изменениям на основе позитивного эмоционального восприятия всего нового.

Заключение. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что сложившийся коллектив хорошо воспринимает все нововведения и готов поддерживать их в дальнейшем в условиях осознания стремления организации к новшествам. Полученные результаты в дальнейшем позволят определить требуемые управленческие функции и цели, а также разработать стратегию управления персоналом в условиях трансфера знаний, технологий и экспортной политики фармацевтического предприятия.

Ключевые слова: управление персоналом; мотивация; биотехнологическая компания; экспорт; иммунобиологические лекарственные препараты

Для цитирования: Е.В. Казакова, В.П. Трухин, И.А. Наркевич, И.И. Басакина. Анализ системной готовности персонала к изменениям на примере экспортно ориентированного биотехнологического предприятия. *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):495-505. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-495-505

© Е.В. Казакова, В.П. Трухин, И.А. Наркевич, И.И. Басакина, 2021

For citation: E.V. Kazakova, V.P. Trukhin, I.A. Narkevich, I.I. Basakina. Analysis of the personnel's consistent readiness for changes as illustrated by the example of an export-oriented biotechnological enterprise. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):495-505. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-495-505

ANALYSIS OF THE PERSONNEL'S CONSISTENT READINESS FOR CHANGES AS ILLUSTRATED BY THE EXAMPLE OF AN EXPORT-ORIENTED BIOTECHNOLOGICAL ENTERPRISE

E.V. Kazakova^{1,2}, V.P. Trukhin^{1,2}, I.A. Narkevich², I.I. Basakina²

¹ Saint Petersburg Research Institute of Vaccines and Sera and Manufacturer of Bacterial Preparations
52, Svobody St., Krasnoe Selo, St. Petersburg, Russia, 198320

² Saint-Petersburg State Chemical Pharmaceutical University
14, Prof. Popova St., St. Petersburg, Russia, 197022

E-mail: e.v.kazakova@spbniivs.ru

Received 07 Sep 2021

After peer review 30 Nov 2021

Accepted 03 Dec 2021

The biotechnology industry is currently one of the most dynamically developing sectors of the pharmaceutical industry, that is why it requires improvement in the personnel management system aimed at increasing the flexibility and adaptability of the organization.

The aim of the research is to determine the degree of readiness of the organization's employees for innovations as illustrated by the example of an export-oriented enterprise.

Materials and methods. The source information was collected from the employees of the biotechnological enterprise through a questionnaire survey. The representative sample included 588 respondents. The statistical processing of data was carried out using the specialized software IBM SPSS STATISTICS (IBM, USA, 2017). The consistent readiness of the organization's employees for innovations was determined using I.O. Zagashv's methods. To assess the reliability of the psychological test, an internal consistency model with Cronbach's alpha was applied. Statistical hypotheses were tested by comparing the central tendencies of two independent samples using Student's t-test and the Mann-Whitney nonparametric test.

Results. The distribution results of key motivating factors for personnel showed that motivating factors such as an adequate salary and sustainable employment took the leading positions. However, the assessment of the employees' consistent readiness for innovations according to I.O. Zagashv's methods shows a high degree of the personnel's readiness for changes due to positive emotional perception of any innovations.

Conclusion. The results obtained make it possible to arrive at the conclusion that the established team favorably responds to all innovations, and is ready to support them in the future being aware of the organization's desire for innovations. In the future, the results will be used to determine the required management functions and goals and to develop the personnel management strategy in the context of the knowledge transfer, technology and export policy of the pharmaceutical enterprise.

Keywords: personnel management; motivation; biotechnological company; export; immunobiologicals

Abbreviations: VHI – voluntary health insurance

ВВЕДЕНИЕ

В рамках государственной политики Российской Федерации по развитию фармацевтической промышленности, одной из ключевых задач является создание экспортно ориентированного потенциала и увеличение объема экспорта фармацевтической продукции на внешние рынки [1, 2]. На сегодняшний день фокус многих отечественных фармацевтических компаний уже обращен на международное сотрудничество: все больше российских компаний открывают свои филиалы и подразделения за рубежом, при этом лидирующие позиции в рейтингах показателей объема экспорта готовых лекарственных средств из России занимает группа J07 Вакцины [3]. Следует отметить, что Федеральное государственное унитарное предприятие «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» Федерального медико-биологического

агентства (ФГУП СПБНИИВС ФМБА России) с 2013 г. активно развивает проект по внедрению отечественных иммунобиологических препаратов и технологий по их производству на рынки стран Центральной и Латинской Америки. С 2015 года Российская Федерация реализует проект по созданию совместного российско-никарагуанского предприятия – Латиноамериканского института биотехнологии МЕСНИКОВ, которое позволит обеспечить потребность региона Латинской Америки в вакцинах, которые на данный момент приобретаются Возобновляемым фондом Панамериканской организации здравоохранения [1, 4].

Однако в настоящее время перед многими российскими компаниями, имеющими подразделения за рубежом, стоит ряд проблем, связанных не только с освоением улучшенной технологии, созданием нового продукта, необходимого рынку региона присутствия, но и с совершенствованием организационных

структур. Согласно статистическим данным, 70-80% нововведений не внедряются в организациях, что обусловлено не совершенствованием системы управления изменениями в организации, в т.ч. подбором кадров и управлением персоналом. На примере ФГУП СпбНИИВС ФМБА России, которое выступает в роли материнской компании ранее обозначенного проекта, возникает ряд проблемных вопросов. Анализ рынка труда Никарагуа показывает отсутствие специалистов необходимой квалификации, в результате чего кроме трансфера технологии еще одной ключевой задачей выступает трансфер знаний [4]. Недостаточность профессиональных компетенций среди коллектива дочерней организации, который находится на стадии формирования, требует максимальной нагрузки от материнской компании при выполнении ключевых управленческих функций – планирования, организации и контроля в среде принимающей стороны и функции мотивации для персонала со стороны ФГУП СпбНИИВС ФМБА России, учитывая высокий уровень сопротивления сотрудников к изменениям, обусловленный возникновением новых трудовых функций. Управление персоналом в таких случаях нуждается в специфическом подходе и адаптации уже имеющегося опыта в условиях организационных изменений. Учитывая вышеизложенное, совершенствование системы управления персоналом, направленной на повышение гибкости и адаптивности организации, является ключевым вектором деятельности подобных проектов.

ЦЕЛЬ. С целью грамотного планирования механизмов управления на первом этапе целесообразна своевременная оценка текущего состояния и определение степени готовности сотрудников организации к изменениям на примере экспортно ориентированного биотехнологического предприятия (ФГУП СпбНИИВС ФМБА России), что и составило цель исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первичная информация была собрана методом анкетирования сотрудников ФГУП СпбНИИВС ФМБА России в марте 2021 г. Репрезентативная выборка составила 588 респондентов.

Разработанная анкета состояла из введения, речевой части, позволяющей раскрыть портрет респондента, и основной части, структурированной в 2 блока. В первом блоке из 14 предложенных факторов, мотивирующих сотрудника организации к работе, респонденту предлагалось оценить их в порядке увеличения значимости. Второй блок вопросов был направлен на определение системной готовности сотрудников организации к инновациям с использованием методики И.О. Загашева, которая включала 56 утверждений, рекомендованных для выражения отношения испытуемых к высказываниям по 4-балльной шкале. Методика позволила проанализиро-

вать 7 аспектов, такие как готовность последовать за лидером, при условии материального вознаграждения, при условии возможности взять на себя ответственность за инновацию, при условии личностной и профессиональной самореализации, при условии отсутствия серьезных изменений, на основании прошлого опыта, на основе позитивного эмоционального восприятия всего нового [5].

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка данных проводилась с использованием специализированной программы IBM SPSS STATISTICS (IBM, USA, 2017). С целью оценки надежности психологического теста по методике И.О. Загашева применялась модель внутренней согласованности с использованием коэффициента Альфа Кронбаха, базирующаяся на гомогенности шкалы, и вычисляемая как сумма корреляций между ответами респондентов на вопросы внутри одного аспекта [6].

С целью проверки статистических гипотез в рамках сравнения центральных тенденций двух независимых выборок использовались критерий Стьюдента (t -критерий) и непараметрический метод Манна-Уитни (U -критерий). Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В анкетировании принимали участие респонденты в возрасте от 21 до 73 лет, средний возраст составил 38 лет, преимущественно женщины (63%). Согласно результатам исследования, распределение опрошенных на обремененных семейными обязательствами и без таковых составило 57% и 43% соответственно, что может свидетельствовать о наличии достаточного контингента сотрудников со стабильным подходом к трудовой деятельности и тех, кто готов возложить на себя дополнительные трудовые обязанности, заинтересован в командировках и освоении новых компетенций. Выборка респондентов была представлена специалистами (46%), рабочими (36%) и руководящим звеном (20%). Уровень дохода в большей степени представлен категориями 30000–50000 руб. и 50000–75000 руб. Распределение респондентов по дивизионам показало, что согласно текущей организационной структуре: 65% сотрудников относятся к производственно-техническому дивизиону; 20% – дивизиону обеспечения; 10% – дивизиону развития; 5% представляют другие направления. Распределение респондентов по стажу работы указывает на преобладание контингента от 1 года до 6 лет (49%), при этом обращает на себя внимание значительная доля сотрудников со стажем работы до 1 года (20%), что объясняется высокими темпами развития организации и, следовательно, потребностью в новых сотрудниках. Следует также обратить внимание на присутствие в организации персонала со стажем работы в данной организации более 15

лет, опыт которых применим при наставничестве и менторстве. Важно также отметить, что на момент исследования значительная доля (57%) сотрудников принимает активное участие в реализации вышеуказанного проекта, при этом обращает на себя внимание тот факт, что почти половина персонала (49%), не задействованного в проекте, проявили интерес к проводимым в организации нововведениям и выразили желание принять участие в реализованных организацией проектах.

Учитывая тот факт, что развитие инновационных процессов в организации требует от сотрудника дополнительных новых компетенций, навыков и готовности к изменениям, вторым этапом исследования был анализ мотивации персонала, результаты которого в последующем руководству целесообразно применить в процессе организации деятельности, чтобы каждый участник процесса старался выполнять профессиональные обязанности наилучшим образом [7]. Система стимулирования и мотивации в организации на является важным и эффективным инструментом управления персоналом, эффективность которой зависит от множества факторов, в том числе от системы коммуникации и стиля работы руководства организации. Современные системы стимулирования требуют качественной разработки и правильного использования на практике [8].

Анализ данных показал (рис. 1), что лидирующие позиции заняли такие мотивационные факторы, как достойная заработная плата, стабильная работа, интерес к работе, отношения в коллективе, комфортные условия и возможности профессионального роста. В меньшей степени представлена нематериальная мотивация (деятельность профсоюза, эффективность программ в рамках ДМС, корпоративная культура, атмосфера в коллективе, взаимоотношение с коллегами), возможность обучения (совершенствование и расширение спектра профессиональных навыков, изучение иностранных языков). Остальные факторы (возможность работы с иностранными коллегами, за рубежом, работа с профессионалами и лучшими учеными, относительная свобода действий при выполнении обязанностей, участие в реализации стратегии организации, развитие лидерских качеств, достижение лидерских позиций) не преодолели 5% барьер. При этом следует обратить внимание на низкие показатели такого фактора, как участие в инновационных проектах, что указывает на недостаточную осведомленность персонала в разрезе выгоды для каждого участника инновационного процесса. Результаты распределения ключевых мотивирующих факторов для персонала в зависимости от их участия в проекте указывают на преобладание тех же критериев, которые были выявлены при анализе по категориям персонала (рис. 2).

Разработка и внедрение механизмов формирования готовности организации к изменениям позво-

ляют повысить эффективность внедрения инновационных процессов, а точные инструменты оценки помогают выявить сотрудников, вовлеченных в изменения, активно поддерживающих, сопротивляющихся и консервативно настроенных сотрудников, и затем разработать программы действия с разными группами работников [8, 9].

Результаты анализа системной готовности сотрудников СПбНИИВС к инновациям указывают на высокую степень готовности на основе позитивного эмоционального восприятия всего нового и позволяют сделать вывод, что сложившийся коллектив хорошо воспринимает все нововведения и готов их в дальнейшем поддерживать в условиях осознания стремления организации к новшествам (рис. 3, 4). Сотрудники в принципе хорошо воспринимают все новое и на первых стадиях внедрения инновации они будут ее поддерживать, если будет присутствовать чувство новизны.

Также значительную долю составил аспект в части готовности при условии личностной и профессиональной самореализации особенно для специалистов. Сотрудники готовы поддержать новшество и инновации, если они, в его представлении, связаны с личностной и профессиональной самореализацией и помогут ему почувствовать себя профессионально выше.

Готовность при условии материального вознаграждения занимает незначительную долю в отличие от прямого анкетирования, которое показало высокую долю достойной заработной платы в качестве мотивационного фактора. Таким образом, можно сделать промежуточный вывод, что методика позволяет выявить скрытые мотивационные составляющие готовности персонала к нововведениям.

Фактор готовности последовать за лидером в большей степени был выражен среди сотрудников рабочего звена: работник поддерживает организационное новшество при условии, что есть лидер, который будет объяснять, брать на себя ответственность, контролировать.

Аспект готовности при условии возможности взять на себя ответственность за инновацию преобладает среди руководителей, что свидетельствует о ярко выраженных лидерских качествах руководящего звена, которые поддерживают новшества, которые помогают им реализовать себя как руководителя, взять на себя ответственность за результат команды. Готовность при условии отсутствия серьезных изменений характерна для персонала готового поддержать инновацию, если она в его представлении не несет значимых изменений в текущей трудовой деятельности. Готовность на основании прошлого опыта характерна для руководителей, которые поддерживают инновации, поскольку они связаны с успешным участием в инновациях прошлых периодов.

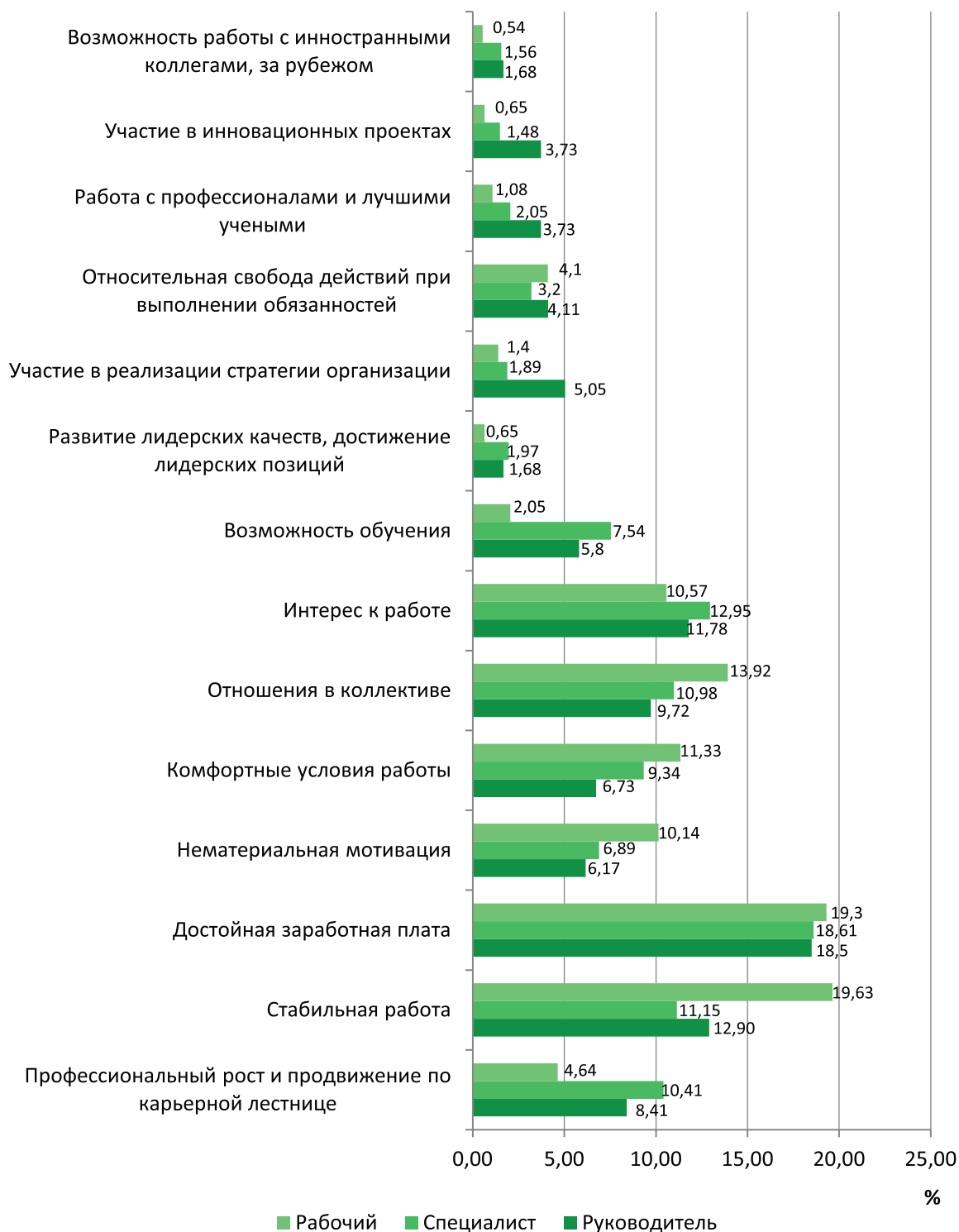


Рисунок 1 – Анализ системы мотивации персонала

Примечание: распределение по категориям персонала

Следующим этапом исследования была реализована оценка надежности психологического теста с использованием коэффициента Альфа Кронбаха, который возрастает по мере увеличения взаимных корреляций переменных и отражает внутреннюю согласованность оценки достоверности результатов тестов.

Как показывают полученные данные, коэффициент внутренней согласованности имеет для большинства аспектов значения близкие к 1, что говорит о приемлемой и высокой степени надежности внутренней согласованности для аспектов № 2, 3, 4, 5, 6 и лидирующего аспекта № 7 (табл. 1). Сравнение

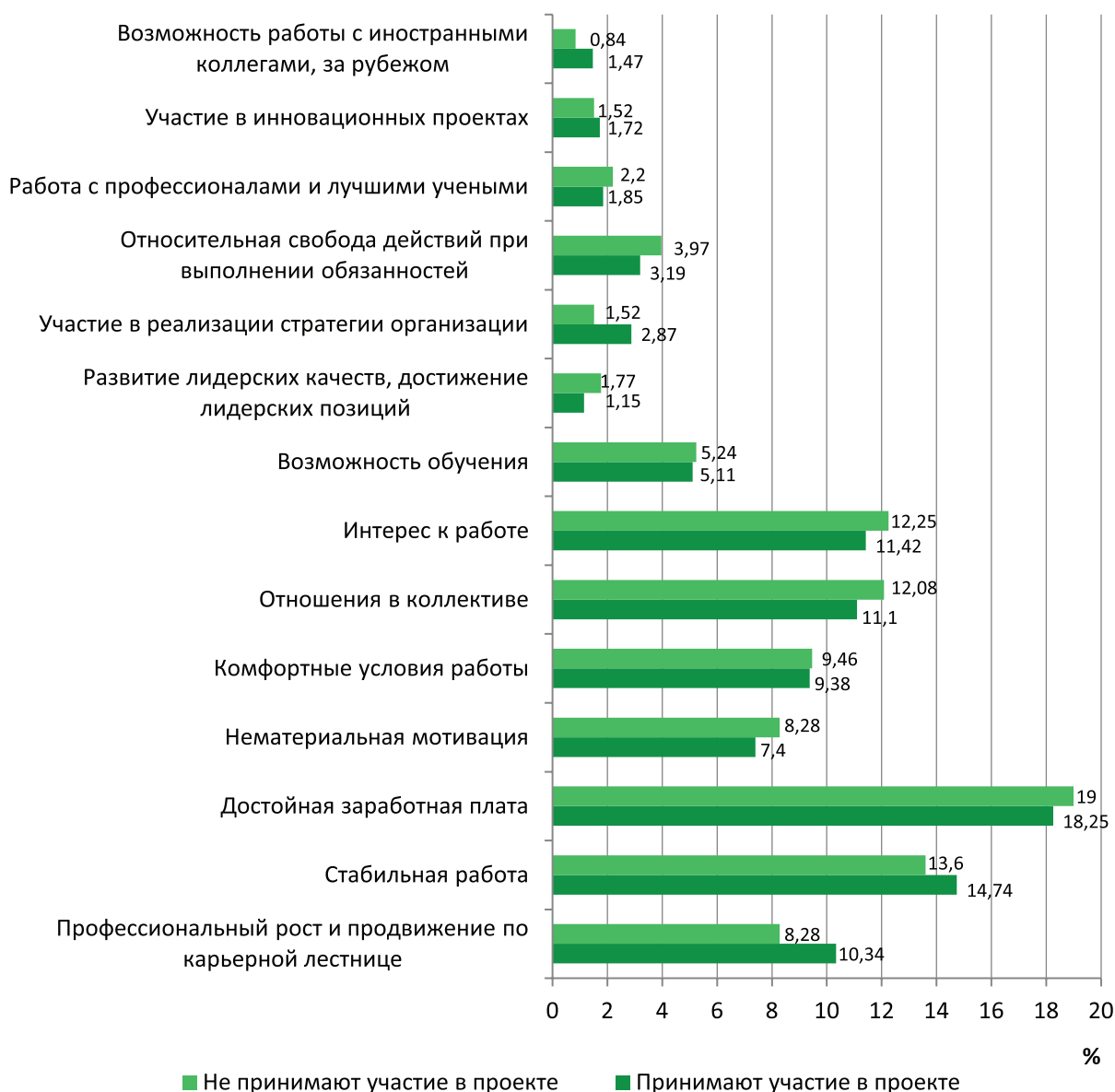


Рисунок 2 – Анализ системы мотивации персонала

Примечание: распределение сотрудников по участию в проекте.

центральных тенденций двух независимых выборок с использованием критерия Стьюдента (t-критерия) и непараметрического метода Манна-Уитни показало в большинстве случаев значение $p < 0,05$, что свидетельствует о наличии достоверных различий между распределениями в соответствующих выборках (специалист, руководитель, рабочий).

ОБСУЖДЕНИЕ

Любые фармацевтические компании, в том числе биотехнологического профиля, подвержены перманентным изменениям. Учитывая вышеизложенное, актуальным является разработка своевременных мероприятий по внедрению инноваций и способность руководства эффективно их использовать в процессе управленческой деятельности. По мнению ряда ав-

торов практически все крупные компании обязаны применять «сопровождающие» проекты по управлению изменениями с обязательным использованием оценки рациональных составляющих готовности организации и разработкой плана внедрения изменений [10].

Ключевыми функциями управления в условиях организационных изменений являются: эффективное планирование, которое включает разработку видения будущего и подготовку необходимых ресурсов; организацию, обеспечивающую установление структурированного подхода к преобразованию систем и стратегий компании; кадровое обеспечение, основной задачей которого является обеспечение организации необходимыми человеческими ресурсами; лидерство и контроль. Важно отметить,

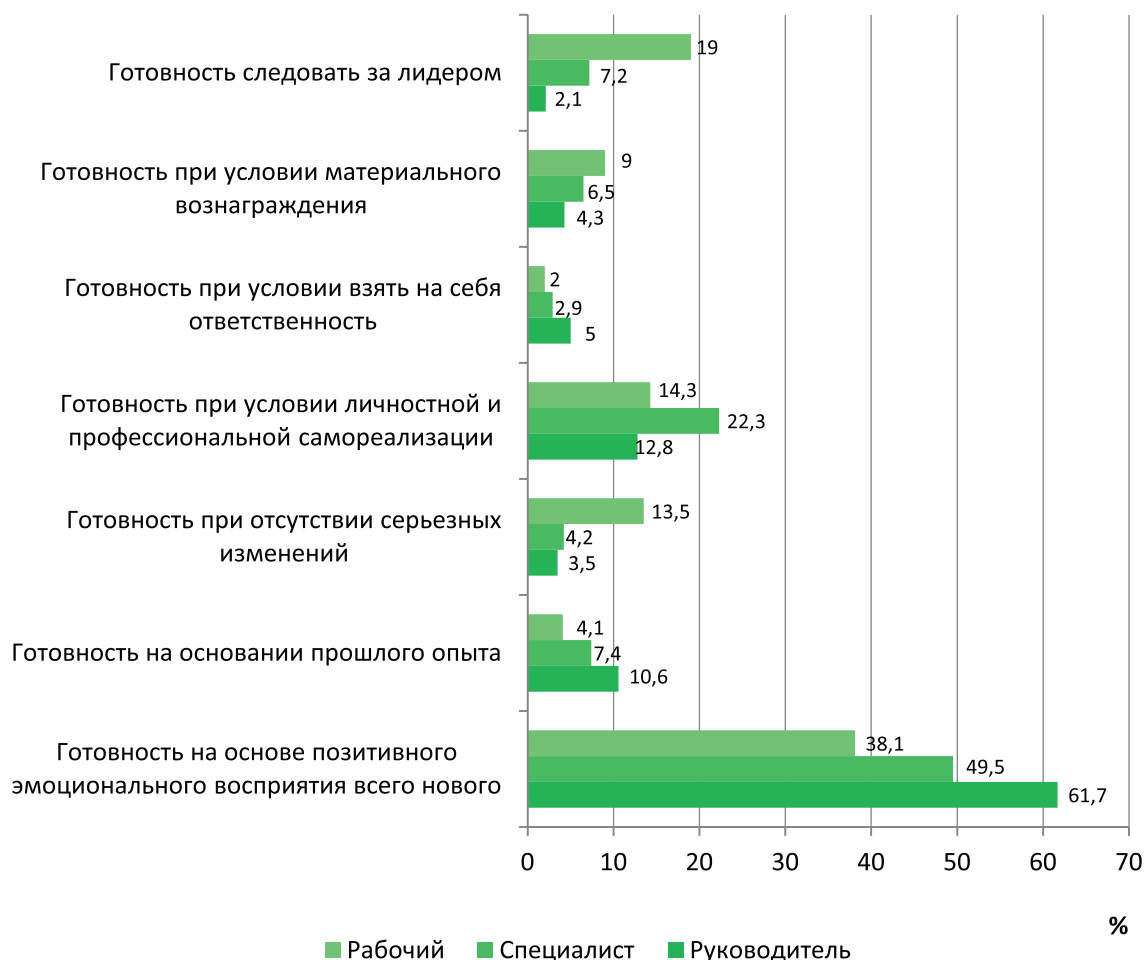


Рисунок 3 – Системная готовность сотрудников к инновациям

Примечание: распределение по категориям персонала.

что управление изменениями в компании следует реализовывать как на индивидуальном, так и на групповом и системном уровнях. Особое внимание организациям следует уделять мерам кадрового и организационного развития для поддержки своих сотрудников и создания организационной культуры, ориентированной на развитие [11–14]. С целью максимального принятия изменений на индивидуальном уровне в практике активно применяются модели, включающие осознание сотрудником организации необходимости изменений, желание участвовать и поддерживать изменения, знание того, какие изменения будут иметь место и какие выгоды, риски и последствия возможны после их внедрения, а также способность реализовать изменение. Руководство внедрением инноваций требует модификации стиля управления, который необходимо адаптировать; определения типов механизмов, которые будут задействованы, а также распределения ролей и должностных обязанностей.

Сегодня под инновационной деятельностью организации понимают, в том числе, адресное изменение системы взаимодействия в компании, которое

способствует совершенствованию ее деятельности. Управление изменениями и инновациями становится важной задачей руководства не только с целью обеспечения выживаемости организации, но и для достижения устойчивого успеха [15]. Для реализации поставленной цели первоочередной задачей выступает диагностика внедрения инноваций, результаты которой позволяют определить готовность организации к проведению изменений, выявить ресурсы и разработать стратегию. Неспособность оценить готовность к организационным и индивидуальным изменениям может привести к расходам организации, в том числе временным затратам, которые идут на борьбу с сопротивлением переменам. При оценке организационной готовности к изменениям необходимо учитывать человеческий фактор, максимально использовать ситуационный подход и системный факторный анализ, активно развивать концепцию обучающей организации, применять механизмы самоорганизации в управлении [10]. Готовность организации к инновациям зависит от того насколько сотрудники компании ценят изменение и насколько положительно они оценивают три ключевых факто-

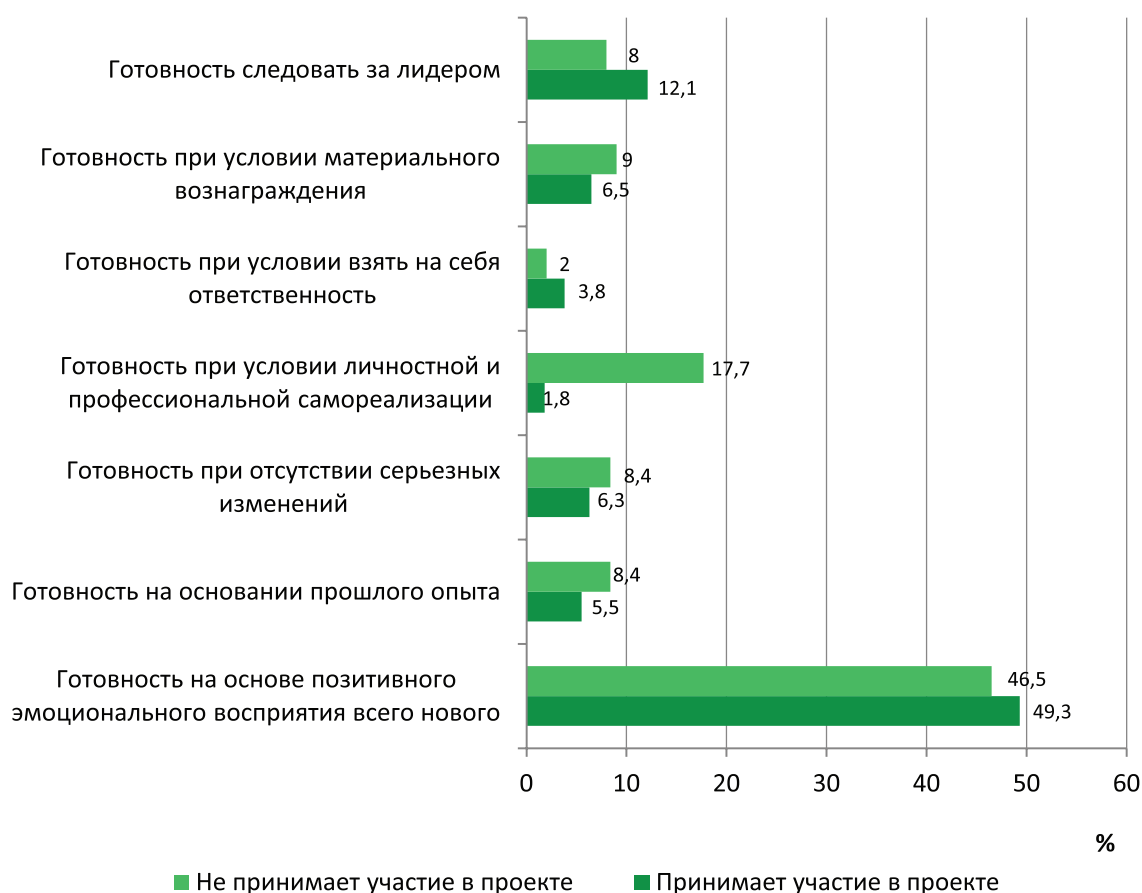


Рисунок 4 – Системная готовность сотрудников к инновациям

Примечание: распределение сотрудников по участию в проекте.

ра, определяющих возможности реализации: требования к задачам, доступность ресурсов и ситуационные факторы.

Однако следует отметить, что, несмотря на достаточно высокий уровень развития данного направления, в отечественных и зарубежных литературных источниках в большей степени представлены отдельные практические методики оценки организационной готовности к изменениям [16]. Кроме того, важно подчеркнуть, что единой концепции готовности организации к изменениям не существует, а готовность сотрудников организации к инновациям на примере экспортно ориентированного биотехнологического предприятия ранее не изучалась.

В рамках реализованного исследования было показано, что в условиях повышенного риска при внедрении инновационных процессов, которые обычно связаны с процессами изменений (например, повышенная неопределенность, завышенный уровень стресса, высокая вероятность неудач), значительную долю занимает роль руководителей всех уровней. Полученные результаты подтверждают тезис ряда авторов о ключевой роли лидеров в развитии творческих компетенций, навыков сотрудников и инноваций [15, 17]. Установлено, что для успешной реализации запланированных изменений подлинным

лидерам необходимо создать у сотрудников готовность к изменениям, что, в свою очередь, разовьет их приверженность к инновациям и поведенческую поддержку изменений [18]. Роль лидеров заключается в создании оптимальной готовности и усилении институционализации относительно крупномасштабных организационных изменений в направлении корпоративной устойчивости [19]. Учитывая тот факт, что лидерское поведение способствует организационной идентификации в период неопределенности, в дальнейшем целесообразным является смещение вектора деятельности руководителей в такие области компетенций, как управление организационными изменениями, управленческая деятельность в коллективе, развитие коммуникативных навыков [20, 21]. Кроме того следует отметить, что особое внимание руководителя должно быть направлено на выявление и последующую мотивацию агентов изменений, которые выступают катализаторами трансформации организации за счет поддержки, развития и контроля внедрения инноваций, принимают участие в создании команд, обеспечивают межгрупповое взаимодействие [22].

Кадровая политика в условиях организационных изменений требует обязательного исследования психологической готовности персонала, которому

Таблица 1 – Оценки надежности психологического теста по методике И.О. Загашева

Аспект	Категория персонала	X	p_t	p_u	σ	α	$\alpha_{\text{общ}}$	n
№ 1. Готовность последовать за лидером	рабочий	31,55	**/**	**/**	5,68	0,43	0,44	8
	специалист	30,27	*	*	4,74	0,46		
	руководитель	29,97	*	*	4,58	0,40		
№ 2. Готовность при условии материального вознаграждения.	рабочий	28,75	**/**	**/**	6,39	0,60	0,62	8
	специалист	27,25	*	**/**	6,02	0,66		
	руководитель	26,03	*	**/**	5,21	0,63		
№ 3. Готовность при условии возможности взять на себя ответственность за инновацию.	рабочий	25,66	**/**	**/**	8,14	0,79	0,78	8
	специалист	30,56	**/**	**/**	6,61	0,76		
	руководитель	34,66	**/**	**/**	5,17	0,74		
№ 4. Готовность при условии личной и профессиональной самореализации.	рабочий	30,73	**/**	**/**	7,02	0,69	0,71	8
	специалист	35,25	*	*	5,74	0,72		
	руководитель	36,06	*	*	5,27	0,68		
№ 5. Готовность при условии отсутствия серьезных изменений.	рабочий	29,92	**/**	**/**	6,64	0,65	0,69	8
	специалист	26,25	**/**	**/**	6,18	0,65		
	руководитель	22,92	**/**	**/**	6,57	0,74		
№ 6. Готовность на основании прошлого опыта.	рабочий	24,53	**/**	**/**	7,94	0,83	0,84	8
	специалист	30,26	**/**	**/**	7,35	0,83		
	руководитель	34,95	**/**	**/**	6,38	0,84		
№ 7. Готовность на основе позитивного эмоционального восприятия всего нового.	рабочий	33,86	**/**	**/**	7,35	0,77	0,79	8
	специалист	37,06	**/**	**/**	6,11	0,80		
	руководитель	39,94	**/**	**/**	5,12	0,77		

Примечание: X – среднее арифметическое оценки респондентов; p_t – t-критерий Стьюдента; p_u – u-критерий Манна-Уитни; σ – среднее квадратическое отклонение; α – коэффициент альфа Кронбаха; n – количество наблюдений; * – <0,05 в сравнении с рабочим; ** – <0,05 в сравнении со специалистом; *** – < в сравнении с руководителем.

в условиях внедрения инноваций присущи такие эмоциональные стадии, как: отрицание и гнев, торг, депрессия, пересмотр и принятие [23]. На практике доказано, что осуществляемые организационные изменения способствуют развитию психосоциальных рисков, в результате этого многие инициативы не приводят к желаемым результатам [24]. Кроме того, возможные рискованные ситуации руководству следует учитывать при реализации системы управления охраной труда в организации [25].

Мотивационная готовность персонала определяется как воспринимаемая необходимость в изменении или его неизбежность. Чем больше члены организации ценят изменение, тем больше они хотят его реализовать. Полученные в работе результаты исследования системы трудовой мотивации позволяют сделать промежуточный вывод, что в исследуемой организации могут быть применимы методы как внутренней, так и внешней мотивации сотрудников, с использованием как убедительных, так и настойчивых стратегий управления. Следует отметить, что данные анкетирования целесообразно использовать при формировании внутренней корпоративной социальной ответственности. Факторы психологического климата включают в себя прозрачность миссии и целей, сплоченность коллектива, коммуникации,

открытость к изменениям. Анализ литературных данных показывает, что благополучие сотрудников – фундаментальный фактор эффективности организации, в том числе фармацевтических компаний. Организации с высоким уровнем корпоративной социальной ответственности могут обеспечить успех за счет инновационного поведения сотрудников [26–28].

Результаты оценки процесса осуществления изменений показали, что на текущем этапе для персонала организации участие в инновационных проектах не является значимым фактором. Такие итоги исследования отношения коллектива к участию в изменениях организации требуют разработки современного подхода к управлению, направленного на изменения убеждения сотрудников, соответствующую оценку мнений и настроения работников организации, разработку и внедрение актуальной маркетинговой стратегии с целью снижения рисков и последующего повышения жизнеспособности и конкурентоспособности организации [10, 16].

Таким образом, проведенное в работе исследование в части анализа организационной готовности к изменениям, позволяет прогнозировать способности сотрудников принимать участие в предложенных инновациях и в последующем применять к отдельным

категориям персонала соответствующие методы стимулирования и системы вознаграждения. Кроме того, подобные исследования показывают на сколько предлагаемые изменения применимы в данной организации, отражают приверженность лидеров к проводимым мероприятиям и помогают в разработке соответствующей корпоративной культуры [8].

Полученные в работе результаты будут положены в основу разработки адаптивной модели управления персоналом биотехнологического предприятия в условиях организационных изменений. Установлено, что включение принципов мотивационного собеседования на готовность к изменениям может помочь отдельным сотрудникам принять процесс изменений, повысив достижения инициатив по изменению. Ранний анализ показывает, что упреждающая стадия перед внедрением инноваций – это не только фаза

пассивного ожидания для членов организации, а активный процесс осмысления и позиционирования будущего организации [13, 29–31].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примере экспортно ориентированного биотехнологического предприятия проанализирована степень готовности сотрудников организации к изменениям, в том числе проанализированы мотивационные факторы, выявлены факторы, препятствующие и способствующие развитию инновационных процессов. Полученные результаты в дальнейшем позволят определить требуемые управленческие функции, цели и разработать стратегию управления персоналом в условиях трансфера знаний, технологий и экспортной политики фармацевтического предприятия.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело какой-либо финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Е.В. Казакова – выбор направления исследования, идея, разработка алгоритма, анализ литературы, проведение всех этапов исследования, обработка полученных результатов, написание статьи;
В.П. Трухин – формулирование цели и задачи исследования; И.А. Наркевич – консультация по вопросам проведения отдельных этапов исследования; И.И. Басакина – консультация по вопросам проведения отдельных этапов исследования.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Трухин В.П., Наркевич И.А., Начарова Е.П., Басакина И.И., Полякова И.Н. Актуальные вопросы развития экспорта российской фармацевтической продукции (на примере препаратов биотехнологического профиля) // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники. – 2020. – №7–8. – С. 6–11. DOI: 10.21518/1561-5936-2020-7-8-6-11.
2. Palache A., Oriol-Mathieu V., Abelin A., Music T. Seasonal influenza vaccine dose distribution in 157 countries (2004–2011) // Vaccine. – 2014. – Vol. 32, No.48. – P. 6369–6376. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.07.012.
3. Трухин В.П., Наркевич И.А., Начарова Е.П., Уйба С.В., Басакина И.И. Оценка перспектив экспорта отечественных противогриппозных вакцин в страны Латинской Америки и Карибского бассейна // Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской техники. – 2018. – №11. – С. 49–54. DOI: 10.21518/1561-5936-2018-11-49-54.
4. Трухин В.П., Наркевич И.А., Начарова Е.П., Уйба С.В., Басакина И.И. Анализ факторов неопределенности и оценка рисков создания совместного российско-никарагуанского биотехнологического предприятия // Фармация. – 2020. – Т. 69, №4. – С. 26–31. DOI: 10.29296/25419218-2020-04-04.
5. Holten A.L., Brenner S. Leadership style and the process of organizational change // Leadership & Organization Development Journal. – 2015. – Vol. 36, No.1. – P. 2–16. DOI: 10.1108/LODJ-11-2012-0155.
6. Фомина Е.Е. Обзор методов оценки надежности измерительной шкалы в социологических исследованиях. // Научный журнал «Экономика. Социология. Право». – 2018. – Т. 4, №12. – С. 63–70.
7. Toban C., Sjahruddin H. The Antecedent and Consequence of Organizational Commitment and Job Satisfaction // J. of Business and Management Sci. – 2016. – Vol. 4, No.2. – P. 26–33. DOI: 10.12691/jbms-4-2-1.
8. Наумцева Е.А. Психологическая готовность к организационным изменениям: подходы, понятия, методики. // Организационная психология. – 2016. – Т. 6, №2. – С. 55–74.
9. Shea C.M., Jacobs S.R., Esserman D.A., Bruce K., Weiner J.B. Organizational readiness for implementing change: a psychometric assessment of a new measure // Implementation Sci. – 2014. – Vol. 9, No.7. – P. 1–15. DOI: 10.1186/1748-5908-9-7.
10. Халитова И.В. Организационная готовность к изменениям: обзор методологии и практических методик оценки готовности // Государственное управление. Электронный вестник. – 2013. – №39. – С. 152–162.
11. Turgut S., Neuhaus A.E. The Relationship Between Dispositional Resistance to Change and Individual Career Management: A Matter of Occupational Self-Efficacy and Organizational Identification? // J. Change Management. – 2020. – Vol. 20, No.2. – P. 171–188. DOI: 10.1080/14697017.2020.1720774.
12. Baran B.E., Filipkowski J.N., Stockwell R.A. Organizational Change: Perspectives From Human Resource Management

- // J. Change Management. – 2019. – Vol. 19, No.3. – P. 201–219. DOI: 10.1080/14697017.2018.1502800.
13. Van den Oord A., Elliott K., Witteloostuijn A.v., Barlage M., Polos L., Rogiest, S. A cognitive organization theory (COT) of organizational change: Measuring organizational texture, audience appeal, and leadership engagement // J. Organizat. Change Management. – 2017. – Vol. 30, No.6. – P. 903–922. DOI: 10.1108/JOCM-08-2016-0164.
 14. Shaw D. Managing people and learning in organisational change projects // J. of Organizat. Change Management. – 2017. – Vol. 30, No.6. – P. 923–935. DOI: 10.1108/JOCM-11-2016-0253.
 15. Bligh M.C., Kohles J.C., Yan Q. Leading and Learning to Change: The Role of Leadership Style and Mindset in Error Learning and Organizational Change // J. Change Management. – 2018. – Vol. 18, No.2. – P. 116–141. DOI: 10.1080/14697017.2018.1446693.
 16. Иванов С.Ю., Тренев В.Н., Халитова И.В. Организационная готовность к изменениям: социально-управленческие аспекты и технология управления // Государственное управление. Электронный вестник. – 2015. – №49. – С. 91–104.
 17. Neves P., Schyns B. With the Bad Comes What Change? The Interplay Between Destructive Leadership and Organizational Change // J. Change Management. – 2018. – Vol. 18, No.2. – P. 91–95. DOI: 10.1080/14697017.2018.1446699.
 18. Bakari H., Hunjra A.I., Niazi G.S.K. How Does Authentic Leadership Influence Planned Organizational Change? The Role of Employees' Perceptions: Integration of Theory of Planned Behavior and Lewin's Three Step Model // J. Change Management. – 2017. – Vol. 17, No.2. – P. 155–187. DOI: 10.1080/14697017.2017.1299370.
 19. Thakhathi A., Catherine le Roux, Davis A. Sustainability Leaders' Influencing Strategies for Institutionalising Organisational Change towards Corporate Sustainability: A Strategy-as-Practice Perspective // J. Change Management. – 2019. – Vol. 19, No.4. – P. 246–265. DOI: 10.1080/14697017.2019.1578985.
 20. Aitken K., Treuer K. Leadership behaviours that foster organisational identification during change // J. Organizat Change Management. – 2021. – Vol. 34, No.2. – P. 311–326. DOI: 10.1108/JOCM-01-2020-0029.
 21. Rune Todnem By. Organizational Change and Leadership: Out of the Quagmire // J. Change Management. – 2020. – Vol. 20, No.1. – P. 1–6. DOI: 10.1080/14697017.2020.1716459.
 22. Monnot M.J. Organizational Change Agent Influence: A Conditional Process Model of Key Individual Psychological Resources // J. Change Management. – 2017. – Vol. 17, No.3. – P. 268–295. DOI: 10.1080/14697017.2016.1237534.
 23. Castillo C., Fernandez V., Sallan, J.M. The six emotional stages of organizational change // J. Organizat. Change Management. – 2018. – Vol. 31, No.3. – P. 468–493. DOI: 10.1108/JOCM-05-2016-0084.
 24. Flovik L., Knardahl S., Christensen J.O. The Effect of Organizational Changes on the Psychosocial Work Environment: Changes in Psychological and Social Working Conditions Following Organizational Changes // Front. Psychol. – 2019. – Vol. 10. – P. 28–45. DOI: 10.3389/fpsyg.2019.02845.
 25. Montano D. A Systemic Organizational Change Model in Occupational Health Management // J. Change Management. – 2019. – Vol. 19, No.3. – P. 183–200. DOI: 10.1080/14697017.2018.1526818.
 26. Luu D.T. The effect of internal corporate social responsibility practices on pharmaceutical firm's performance through employee intrapreneurial behavior // J. Organizat. Change Management. – 2020. – Vol. 33, No.7. – P. 1375–1400. DOI: 10.1108/JOCM-03-2020-0072.
 27. Tang J., Mo L., Liu, W.B. The attributes of organizational change: How person-organization value congruence influences employees' coping // J. Organizat. Change Management. – 2021. – Vol. 34, No.1. – P. 121–136. DOI: 10.1108/JOCM-04-2017-0122.
 28. Holly H.C. Employees' Intrinsic and Extrinsic Motivations in Innovation Implementation: The Moderation Role of Managers' Persuasive and Assertive Strategies // J. Change Management. – 2018. – Vol. 18, No.3. – P. 218–239. DOI: 10.1080/14697017.2017.1407353.
 29. Maes G., Van Hootegem G. A systems model of organizational change // J. Organizat. Change Management. – 2019. – Vol. 32, No.7. – P. 725–738. DOI: 10.1108/JOCM-07-2017-0268.
 30. Krogh S. Anticipation of organizational change // J Organizat Change Management. – 2018. – Vol. 31, No.6. – P. 1271–1282. DOI: 10.1108/JOCM-03-2017-0085.
 31. Conrado J.G.J. Organizational Change: Effect of Motivational Interviewing on Readiness to Change // J. Change Management. – 2018. – Vol. 18, No.1. – P. 54–69. DOI: 10.1080/14697017.2017.1349162.

АВТОРЫ

Казакова Елена Владимировна – заместитель директора по управлению персоналом и организационному проектированию ФГУП СПбНИИВС ФМБА России; ассистент Научно-образовательного центра иммунобиотехнологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-0218-6641. E-mail: e.v.kazakova@spbniivs.ru

Трухин Виктор Павлович – кандидат юридических наук, директор ФГУП СПбНИИВС ФМБА России; профессор Научно-образовательного центра иммунобиотехнологии ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6635-363X. E-mail: truhin64@gmail.com

Наркевич Игорь Анатольевич – доктор фармацевтических наук, профессор, ректор, заведующий кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-5483-6626. E-mail: igor.narkevich@pharminnotech.com

Басакина Ирина Ивановна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3190-7193. E-mail: irina.basakina@pharminnotech.com

УДК 582.736:615:322:577.21



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ НА ПРИМЕРЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ В ПРЕДЕЛАХ РОДА *HEDYSARUM* L.

Д.Р. Имачуева¹, Ф.К. Серебряная², Э.М. Мачс³, В.В. Коцеруба³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дагестанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, пл. Ленина 1

² Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 357532, Россия, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр-кт Калинина, 11

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 2

E-mail: djakag01@gmail.com

Получено 04.10.2021

После рецензирования 30.11.2021

Принята к печати 05.12.2021

Актуальной задачей в фармакогнозии на данный момент является применение всевозможных методов ДНК-анализа для идентификации растительного сырья, выявления фальсификатов, генетически модифицированных сельскохозяйственных культур и продуктов.

Цель. Изучить возможность применения молекулярно-генетических методов исследований при анализе рода *Hedysarum* L. для идентификации лекарственного растительного сырья. В данной статье представлены результаты применения молекулярно-генетических методов исследования при анализе рода *Hedysarum* L. флоры Северного Кавказа.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили образцы видов рода *Hedysarum* L., собранные на территории Северного Кавказа: *Hedysarum caucasicum* M.Bieb. (фаза плодоношения на территории Карачаево-Черкесской Республики); *Hedysarum grandiflorum* Pall. (фаза плодоношения в Волгоградской области); *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (фаза цветения в Республике Дагестан). Секвенирование маркерного участка ITS1-5.8S-ITS2 гена 5.8S рибосомой РНК проводили по методу Сэнгера на генетическом анализаторе AbiPrism 3130 на базе лаборатории биосистематики и цитологии Ботанического института имени В.Л. Комарова РАН.

Результаты. На основе сравнительного изучения маркерного участка ядерного рибосомного гена 5.8S рРНК были идентифицированы маркерные нуклеотидные замены *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Была построена наиболее вероятная вторичная структура 5.8S рРНК.

Показано, что на основании проведенного анализа можно составить прогноз дополнительных сырьевых источников мангиферина и других групп ксантонов при использовании молекулярных данных, на примере секции *Obscura*.

Заключение. На основании полученных данных можно сделать заключение о том, что в пределах секции *Obscura* можно подтвердить морфологическую классификацию рода *Hedysarum* L.

Ключевые слова: *Hedysarum*; *Hedysarum caucasicum*; *Hedysarum daghestanicum*; *Hedysarum grandiflorum*; секвенирование; ген 5.8S рРНК

Список сокращений: рРНК – рибосомная рибонуклеиновая кислота; тРНК – транскрипционная рибонуклеиновая кислота; РНКазы – Рибонуклеаза; СТАВ – гексадецилтриметиламмоний бромид; ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.

Для цитирования: Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная, Э.М. Мачс, В.В. Коцеруба. Использование методов секвенирования для идентификации видов на примере филогенетических связей в пределах рода *Hedysarum* L. *Фармация и фармакология*. 2021;9(6):506-518. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-506-518

© Д.Р. Имачуева, Ф.К. Серебряная, Э.М. Мачс, В.В. Коцеруба, 2021

For citation: D.R. Imachueva, F.K. Serebryanaya, E.M. Machs, V.V. Kotseruba. Use of sequencing methods for species identification exemplified by phylogenetic relationships within genus *Hedysarum* L. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(6):506-518. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-6-506-518

USE OF SEQUENCING METHODS FOR SPECIES IDENTIFICATION EXEMPLIFIED BY PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS WITHIN GENUS *HEDYSARUM* L.

D.R. Imachueva¹, F.K. Serebryanaya², E.M. Machs³, V.V. Kotseruba³

¹Dagestanian State Medical University

1, Lenin Sq., Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia, 367000

²Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical University

11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

³Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences

2, Prof. Popov Str., St. Petersburg, Russia, 197376

E-mail: djakag01@gmail.com

Received 04 Oct 2021

After peer review 30 Nov 2021

Accepted 05 Dec 2021

At the moment, a relevant objective in pharmacognosy, is the use of all kinds of the DNA analysis methods for identifying plant materials, detecting counterfeits, genetically modified crops and products.

The aim of the research is to study the possibility of using molecular genetic research methods in the analysis of the genus *Hedysarum* L., for the identification of medicinal plant materials. This article presents the results of the application of molecular genetic research methods in the analysis of the genus *Hedysarum* L. in the flora of the North Caucasus.

Materials and methods. The study material was the samples of the genus *Hedysarum* L. species collected in the North Caucasus: *Hedysarum caucasicum* M. Bieb. (in the fruiting phase in the territory of the Karachay-Cherkess Republic); *Hedysarum grandiflorum* Pall. (in the fruiting phase in the Volgograd region); *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss. (in the flowering phase in the Republic of Dagestan). Sequencing of the ITS1-5.8S-ITS2 marker region of gene 5.8S by the RNA ribosome was carried out according to the Sanger method on the AbiPrism 3130 genetic analyzer at the laboratory of biosystematics and cytology of Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences.

Results. Based on a comparative study of the marker region of the nuclear ribosomal gene 5.8S rRNA, marker nucleotide substitutions of *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall, have been identified. The most probable secondary structure of 5.8S rRNA has been constructed. It has been shown that based on the analysis performed, it is possible to predict additional raw material sources of mangiferin and other groups of xanthones using the molecular data exemplified by the *Obscura* section.

Conclusion. Based on the data obtained, it can be concluded that the morphological classification of the genus *Hedysarum* L. can be confirmed within the *Obscura* section.

Keywords: *Hedysarum*; *Hedysarum caucasicum*; *Hedysarum daghestanicum*; *Hedysarum grandiflorum*; sequencing; 5.8S rRNA gene

Abbreviations: rRNA – ribosomal ribonucleic acid; tRNA – transfer ribonucleic acid; RNase – ribonuclease; CTAB – cetyltrimethylammonium bromide; DNA – deoxyribonucleic acid.

ВВЕДЕНИЕ

Наряду с известными методами фармакогно- стического анализа в последние годы вводится перспективный молекулярно-генетический метод исследования [1–5, 20]. Методы молекулярной фармакогнозии занимают достаточно прочное положение при составлении нормативной документации на лекарственное растительное сырье, а также при исследовании филогенетических связей среди близких видов и в пределах разновидностей¹. Для некоторых таксонов, к примеру семейства бобовых, определены полные хлоропластные геномы, включая 115 генов, состоящих из 79 белок-кодирующих генов (68,7%), 31 тРНК генов (26,96%) и 5 рРНК (4,35%) [6]. Хлоропластные геномы являются потенциальными источниками генетических маркеров для проведения филогенети-

ческих исследований, генетического разнообразия и молекулярной идентификации. [7]. Методы молекулярных исследований широко применяются для исследования представителей семейства *Fabaceae*, среди них *Glycine max* (L.) Merr., *V. radiata* var. *radiata*, *V. angularis* var. *angularis*, *Phaseolus vulgaris* L., *Cicer arietinum*, *Arachis hypogaea*, *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*, *Hedysarum polybotrys* [8–11].

Что касается изучения рода *Hedysarum* L., то следует отметить работы Chennaoui H., Marghali S., Marrakchi M., Trifi-Farah N., в которых были изучены филогенетические связи в пределах рода *Hedysarum* L. на основе морфологических и биохимических признаков² [12–14]. Молекулярно-генетическими исследованиями на основе сравнительного анализа рибосомных генов видов рода копеечник, произрастающих

¹ Lu-qi H. Molecular Pharmacognosy. 2 Ed. / Springer Nature Singapore Pte Ltd. & Shanghai Scientific & Technic Publish, 2019. – 303 p. DOI: 10.1007/978-981-32-9034-1.

² Bojnanský V., Fargašová A. Atlas of Seeds and Fruits of Central and East-European Flora: The Carpathian Mountains Region // Dordrecht: Springer, 2007. – 1046 p.

на территории Юго-Восточной Азии, занимались Nafisi H., Ranjbar M., Wojciechowski M. и др. [15, 16].

Были изучены виды *H. chalyrakanicum* и *H. theinum*, для которых авторами отмечен выраженный полиморфизм внутренних транскрибируемых спейсеров ITS гена 5.8S рПНК и признаки филогенетического родства со средиземноморскими видами рода. Отмечается связь между азиатскими и европейскими видами *H. chalyrakanicum* и *H. gmelinii*, которые относятся к родственным секциям *Subacaulia* и *Multicaulia* [17–19].

Кроме известных зарубежных авторов, немалый вклад для рода *Hedysarum* L. внесли отечественные авторы, среди которых И.А. Шанцер и Н.А. Супрун, которые изучали генетическую изменчивость *H. grandiflorum* Pall., *H. biebersteinii* и *H. argyrophyllum* [4, 20–23]. Для изучения генетического полиморфизма *Hedysarum* L. использовали анализ ISSR маркеров, что позволило проанализировать более 100 фрагментов ДНК [24–27].

ЦЕЛЬ. Определение возможности использования молекулярно-генетического метода при проведении комплексных фармакогностических исследований, изучить внутри- и межпопуляционную изменчивость трех видов рода копеечник, собранных на территории Северного Кавказа (*Hedysarum caucasicum* Bieb.(H₁), *Hedysarum grandiflorum* Pall.(H₂), *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss.(H₃)), определить возможные филогенетические связи между видами рода копеечник.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили образцы видов рода копеечник, собранные на территории Северного Кавказа: *H. caucasicum* Bieb., собранный в фазу плодоношения в 2017 году на территории КЧР, Домбайский участок ущелья Алибек; *H. grandiflorum* Pall., фаза плодоношения в 2018 году в Волгоградской области, Иловлинском районе, селения Кондраши; *H. daghestanicum* Rupr. ex. Boiss, фаза цветения в 2015 году в республике Дагестан, селения Анди [28]. В настоящей работе секвенирование проводили по методу Сэнгера, определяя последовательность ITS1-5.8S-ITS2 рПНК [29]. Секвенирование последовательностей ДНК проводили на генетическом анализаторе AbiPrism 3130 (Applied Biosystems, США) на базе лаборатории Биосистематики и цитологии БИН РАН.

Анализ последовательностей ДНК выполняли с помощью программ MEGA 10.0, USA. Выделение геномной ДНК производилось СТАВ методом из листьев гербарных образцов. Для амплификации использовали реактивы Dream Taq PCR Master Mix (Thermo Scientific, США). Полимеразная цепная реакция была проведена на амплификаторе C1000 Thermal Cycler (Bio-Red, США). Параметры циклов амплификации: 3 мин 98°C; 35 циклов: (1 мин 98°C; 30 секунд 54°C; 30 секунд 72°C); 10 мин 72°C.

Для секвенирования использовался набор Big Dye Terminator Kit v.2.0 (Perkin Elmer Life Sciences, Inc., США) и секвенатор ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, Великобритания). Выделение ДНК проводили с помощью методики СТАВ из листьев гербарных образцов или листьев и включала следующие стадии: листья исследуемых образцов измельчали в тонкий порошок в те-

чение 10 секунд используя гомогенизатор TissueLyser (QIAGEN, США). Добавляли 700 мкл предварительно нагретого экстракционного буфера EB, энергично встряхивали; инкубировали при 65°C в течение 1, 2 или более часов; очищали равным объемом смеси хлороформ: спирт изоамиловый (24:1), встряхивали в течение 5 минут и центрифугировали образцы в течение 10 мин при комнатной температуре при 14000 об/мин. Верхнюю фазу переносили в новую пробирку объемом 1,5 мл, осаждали ДНК с помощью 2/3 объема изопропанола (5 мин при комнатной температуре); центрифугировали при комнатной температуре в течение 10 минут при 14000 об/мин; удаляли супернатант и дважды промывали осадок с помощью Wash Buffer (WB). Осадок высушивали на воздухе и растворяли в 300 мкл ТЕ-буфера; добавляли 3 мкл РНКазы (10 мг/мл) и инкубировали 30 мин при 37°C. Доводили концентрацию 2М раствором натрия хлорида; повторно осаждали, добавив 2 объема спирта этилового 96%, промывали 500 мкл спирта этилового 70%, высушивали гранулы на воздухе и растворяли в ТЕ-буфере. Для прямого ПЦР-анализа использовался Phire Plant Direct PCR Master Mix (Thermo Scientific, США), непосредственно предназначенный для листьев и семян растений без предварительной очистки ДНК.

Для очистки амплифицированных фрагментов ДНК использовали стандартный метод электрофореза в агарозном слое. Контроль проводили визуально с помощью УФ-трансиллюминатора, так как полосы окрашенной флуоресцентными красителями ДНК, формируемые молекулами одного размера при продвижении через поры геля, видны в УФ-свете. В качестве красителя ДНК применяли этидия бромид ($\lambda_{max} = 590$ нм), который интеркалирует в молекулы ДНК (встраиваются между соседними парами нуклеотидов). Интенсивность такой флуоресценции в 20 раз выше. Полосу геля, содержащую необходимый фрагмент ДНК, вырезали. Для выделения ДНК из геля использовали набор «QIAquick Gel Extraction Kit» (QIAGEN, США).

Секвенирован маркерный участок ITS1-5.8S-ITS2 гена 5.8S рПНК у представителей рода *Hedysarum*. Филогенетическая реконструкция была основана на сравнении этого маркерного участка секвенированных образцов разного географического происхождения и данных из Genbank NCBI³. Для построения филогенетических деревьев был использован метод максимального правдоподобия в программе MEGA 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Было проведено сравнительное молекулярное изучение образцов *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss, *Hedysarum grandiflorum* Pall., представленных во флоре Кавказа. Проведено сравнение последовательностей ITS1–5.8S–ITS2 гена 5.8S рПНК у *Hedysarum caucasicum* с данными, представленными в Genbank⁴ [30–34]. Полученное филогенетическое древо показано на рисунке 2.

³ GenBank Overview. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>.

⁴ Там же.

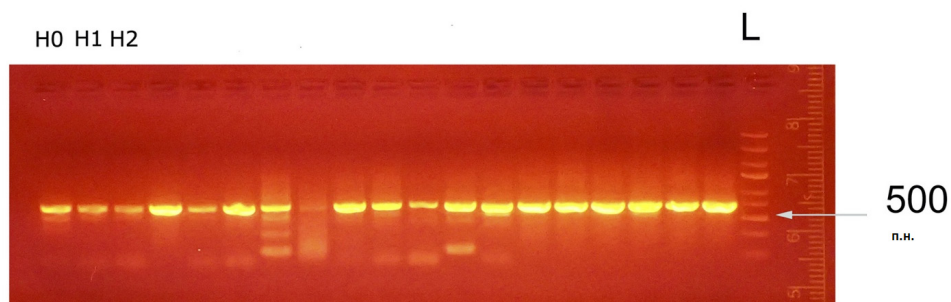


Рисунок 1 – Результаты окрашивания ДНК в УФ-свете (краситель этидия бромид)

Примечание: H₀ – *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex. Boiss; H₁ – *Hedysarum caucasicum* M. Bieb.; H₂ – *Hedysarum grandiflorum* Pall.

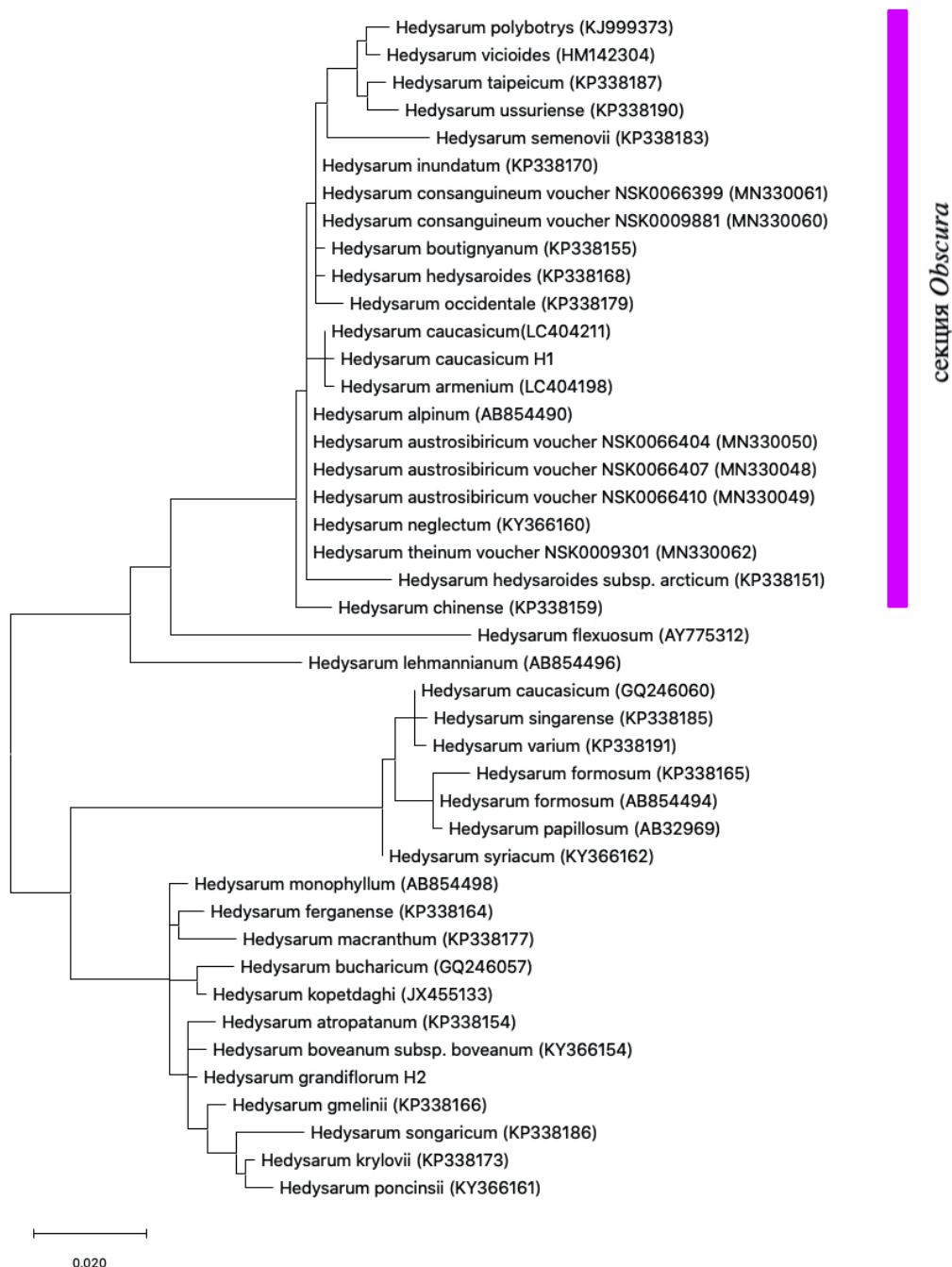


Рисунок 2 – Филогенетические взаимоотношения видов рода *Hedysarum* L.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика морфологических и эколого-фитоценологических признаков видов рода *Hedysarum* L. из филогенетического дерева, произрастающих на территории Российской Федерации

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценологический тип
Секция 2. <i>Spinosissima</i>				
1	Копеечник изгибистый <i>Hedysarum flexuosum</i> L. ^{5,6}	Однолетнее растение; стебель крепкий, ветвистый, 50–120 см; листья с 2–5-парными листочками, Прилистники крупные, свободные; листочки 2–5-парные, почти округлые или продолговато-яйцевидные, снизу рассеянно-пушистые, 15–22 мм длиной.	Цветоносы коротко прижато-волосистые; соцветия удлинённые; венчик пурпуровый или розовый, длиной 10–12 мм, завязь волосистая.	Склоны, луга, на глубоких глинистых почвах; до 100 м.
Секция 3. <i>Obscura</i>				
2	Копеечник арктический <i>Hedysarum arcticum</i> V. Fedtsch. ⁷	Многолетнее растение; стебель крепкий, голый, 20–35 см высотой; прилистники многочисленные, сросшиеся между собой; листочки в числе 4–9-парные, продолговато-эллиптические, сверху голые, снизу опушенные по жилкам и краям или почти голые, 12–20 мм длиной.	Цветоносы пазушные, кисти в начале цветения сжатые, 4–7 см длиной; цветки в количестве 5–30, несколько поникающие, лиловые, фиолетово-красные.	В арктической и прилегающей лесной зоне в тундрах, на песчаных островах, в листовенничном редколесье, приречных кустарниковых зарослях; в высокогорном поясе.
3	Копеечник затопляемый <i>Hedysarum inundatum</i> Turcz. ^{8,9,10}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые, 20–40 см высотой; листья сложные, листочки 5–9-парные, продолговато-эллиптические, прилистники светло-бурые, длиной 8–12 см.	Цветоносы верхушечные; кисти 4–6 см; цветки в количестве 24–35, слегка поникающие; прицветники светло-бурые, линейно-ланцетные, венчик 16–20 мм длиной, розово-лиловый.	По галечникам и утесам в субальпийской и высокогорной зонах, зоны горных хребтов.
4	Копеечник южносибирский родственный <i>Hedysarum consanguineum</i> DC. ^{11,12}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, коротко-пушистые или почти голые, 20–45 см высотой; листья зеленые, образующие 2–4 междоузлия; прилистники многочисленные, сросшиеся, короткие, бурые; листочки 4–8-парные, почти голые или прижато коротко-волосистые.	Цветоносы верхушечные, кисти 10–18 см длиной; цветки в количестве 27–30, горизонтальные или поникающие; чашечка коротко-колокольчатая, пушистая, зубцы ланцетно-шиловидные; венчик 17–19 мм длиной, розово-лиловый.	По долинам рек и болотистым лесам. В высокогорном поясе на альпийских, субальпийских лугах, каменных россыпях, в тундре.
5	Копеечник южносибирский <i>Hedysarum austrosibiricum</i> V. Fedtsch. ^{13,14}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, крепкие, голые, 20–40 см, прилистники сросшиеся в основании стеблей; листочки в числе 4–9 пар, продолговато-эллиптические, сверху голые, снизу по средней жилке и краям едва опушенные, 15–25 мм длиной, 7–10 мм шириной.	Цветки лиловые, фиолетово-лиловые, по 15–30 цветков в пустых кистях, удлинённых при плодах до 10–15 см; прицветники ланцетные, желто-бурые, почти достигающие зубцов чашечки.	В высокогорном поясе на лесных, альпийских и субальпийских лугах, в тундре, на щебнисто-лишайниковых гольцах

⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*. — М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1948. — Т. 13. — С. 259–319.

⁶ Castroviejo S., et al. Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares / *Leguminosae* VII(II) (partim). — Madrid: Real Jardín Botánico. — 2000. — 1121 p.

⁷ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

⁸ Там же.

⁹ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян. — Красноярск: ФГАОУ ВО СФУ. — 2016. — 593 с.

¹⁰ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*) / Под ред. А.В. Положиной, Л.И. Малышевой. — Новосибирск: Наука. — 1994. — Т. 9. — 280 с.

¹¹ Там же.

¹² Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

¹³ Там же.

¹⁴ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*)

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценологический тип
6	Копеечник копеечниковый <i>Hedysarum hedysaroides</i> L. ¹⁵	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые, 30–60 см; прилистники бурые, нижние почти полностью сросшиеся между собой, верхние – частично сросшиеся, с ланцетовидно-вытянутыми свободными концами; листочки 6–9 парные, с редкими волосками 12–20 мм длиной.	Цветоносы длиннее листьев; кисти негустые, удлиненные; цветки многочисленные, 30–40 шт., поникающие, темно-фиолетовые; чашечка с косым оттобом, зубцы ланцетные или шиловидные.	По горным лугам в верхних частях лесной зоны.
7	Копеечник забытый <i>Hedysarum neglectum</i> Ldb. ^{16,17,18}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые или коротко-пушистые, 25–60 см, прилистники многочисленные, короткие, бурые, сросшиеся; листья черешковые, листочки 4–10-парные, продолговато-эллиптические, с обеих сторон прижато опушенные, 17–22 мм длиной.	Цветоносы верхушечные; кисть рыхлая, прицветники бурые, линейно-ланцетные, голые или мало-опушенные; чашечка коротко-колокольчатая, коротко-пушистая; венчик лиловый, пурпурно-лиловый	В высокогорном поясе, спускается в лесной; на субальпийских, альпийских, лесных лугах, каменистых склонах, в разреженных лиственничных лесах
8	Копеечник кавказский <i>Hedysarum caucasicum</i> M. Bieb. ^{19,20}	Многолетнее растение; стебли прямые, облиственные, 30–60 см, листочки 7–12-парные, эллиптические или яйцевидно-продолговатые, с остроконечием на верхушке, 12–16 мм длиной [13].	Цветоносы длиннее листьев; кисти на длинных ножках, в 1,5–2 раза длиннее листьев, не очень густые; венчик темно-пурпуровый или малиновый [13].	Высокогорные луга, 1500–3500 м., на субальпийских и альпийских лугах, на моренах, на осыпях, кривоветных, уступы скал [13].
9	Копеечник Семенова <i>Hedysarum Semenovii</i> Rgl. et Herd. ^{21,22,23}	Многолетнее растение; стебли одиночные, реже в числе 2–3, прямостоячие, бороздчатые, голые или рассеянно волосистые, 50–120 см высотой; прилистники крупные, между собой сросшиеся, бурые, самые нижние безлистные, стеблеобъемлющие; листья коротко черешковые, черешки их, как и ось листа, прижато-волосистые; листочки 4–8-парные, округлые или округло-яйцевидные, нежные, сверху голые, снизу рассеянно, полуприжатоволосистые, 15–35 мм длиной.	Цветоносы пазушные, прижато-волосистые; кисти продолговатые, многоцветковые, густые; прицветники ланцетные, бурые, 4–6 мм длиной; чашечка ширококолокольчатая, 5–6 мм длиной; слетка скошенная, голая или слабо волосистая; венчик желтый	Растет на травянистых склонах, в поясе елового леса.
10	Копеечник альпийский <i>Hedysarum alpinum</i> L. ^{24,25,26}	Многолетнее растение; стебли прямостоячие, голые или в верхней части опушены короткими и слегка курчавыми волосками, 40–120 см высотой; листья сложные непарноперистые; листочки 6–11-парные, продолговато-яйцевидные, 15–30 мм длиной.	Соцветия длинные, густые кисти; цветки в количестве 20–30, розовые, лилово-розовые, в вышущем состоянии фиолетовые, в кистях 5–15 см длиной; чашечка 3,5–4,5 мм, опушена короткими слетка курчавыми волосками; венчик 13–15 мм длиной, завязь голая или опушенная.	На лесных лугах, в березовых и сосновых лесах, по склонам и на береговых обрывах.

¹⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

¹⁶ Там же.

¹⁷ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China (*Fabaceae*). – Beijing: Science Press, 2010. – Vol. 10. – 577 p.

¹⁸ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*), 1994.

¹⁹ Там же.

²⁰ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа. – М.: Изд-во АН СССР, 1952. – Т. V. – 454 с.

²¹ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

²² Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян. Красноярск: ФГАУ ВО СФУ, 2016. 593 с.

²³ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China (*Fabaceae*), 2010.

²⁴ Там же.

²⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

²⁶ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*), 1994.

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценотический тип
11	Копеечник горшковидный <i>Hedysarum viscioides</i> Turcz. ^{27,28}	Многолетнее растение; стебель голый; 50–120 см высотой; прилистники сросшиеся в виде влагалища; листочки 8–9-парные, линейно-продолговатые, сверху голые, снизу по средней жилке и краям едва опушенные.	Кисти рыхловатые, 15–20 см длиной; цветки в количестве 10–30; чашечка голая; венчик бледно-желтый, 10–12 мм длиной.	В долинах рек, на лугах, приречных галечниках, в листовидных и сосновых лесах.
12	Копеечник уссурийский <i>Hedysarum ussuriense</i> I.Schischk&Kom. ^{29,30}	Многолетнее растение с толстым, деревянистым, длинно-стержневым корнем; стебли многочисленные, до 50 см высотой; листья непарноперистые; листочки 3–5-парные, продолговато-яйцевидные, почти голые, 10–20 мм длиной.	Цветки беловато-желтые, многочисленные (до 20), в рыхлом, однобоком, кистевидном соцветии; на длинном цветоносе, превышающем листья.	Растет на известняковых скалах и открытых каменистых склонах до 700 м над уровнем моря. Местами образует заросли. Облигатный кальцефил.
13	Копеечник чайный <i>Hedysarum theinum</i> Krasnob. ^{31,32}	Многолетнее травянистое растение; стебли бороздчатые, голые или слабо прижато-волосистые; 80 см, прилистники бурые, сросшиеся между собой, крупные, чешуевидные; листочки 2–5-парные, короткочерешковые, эллиптические или яйцевидно-эллиптические, сверху голые.	Пурпурно-лиловые цветки собраны по 15–30 штук в рыхлые кисти.	Копеечник забытый растет на альпийских и субальпийских лугах, на травянистых и каменистых склонах, в арчевниках и на галечниках рек.
14	Копеечник армянский <i>Hedysarum armenium</i> Boiss. et Tchih. ³³	Многолетнее травянистое растение; стебли прямостоячие, укороченные, 10–30 см, прилистники светло-коричневые, широкие; листочки 10–13-парные, эллиптические или продолговато-эллиптические, темно-зелёные, длиной 8–12 мм [13].	Кисти густые, по 20–30 цветков; венчик 15-16 мм длиной, тёмно-пурпуровый, завязь опушенная [13].	На горных лугах, на высоте 2.100–3.000 м [13].
Секция 4. <i>Multicaulia</i>				
15	Копеечник красивый <i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey. ^{34,35}	Многолетнее травянистое растение; стебли плотные, до 5 мм в диаметре, прямостоячие, слегка извилистые, ветвистые, 40–70 см; прилистники крупные, ланцетные, нижние сросшиеся, верхние обычно свободные; листочки 6–10-парные, эллиптические, сверху голые, снизу опушены [13].	Кисти удлинённые; зубцы чашечки из ланцетного основания шиловидные; венчик желтый, 13-15 мм длиной, бледный [13].	Солонцеватые степи [13].
16	Копеечник азербайджанский <i>Hedysarum atropatanum</i> Vge. ex Boiss. ^{36,37}	Многолетнее растение; стебли белые, рассеяно серебристо-волосистые 30–40 см, прилистники бело-перепончатые, прижато-волосистые, коротко-треугольные; листочки 6–10-парные, округло-эллиптические или продолговатые, густо покрытые прижатыми серебристыми волосками с обеих сторон, 10–12 мм длиной [13].	Кисти удлинённые, по 10–15 цветков; чашечка колокольчатая, зубцы ее из узколанцетного основания шиловидные, кверху голые; венчик розово-фиолетовый, 15–18 мм длиной [13].	На глинистых сланцах [13].

²⁷ Там же.²⁸ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.²⁹ Там же.³⁰ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.³¹ Флора Сибири *Fabaceae (Leguminosae)*, 1994.³² Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.³³ Там же.³⁴ Там же.³⁵ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа, 1952.³⁶ Там же.³⁷ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценотический тип
17	Копеечник копетдагский <i>Hedysarum kopetdaghi</i> Boriss. ³⁸	Многолетнее растение; многостебельное, 25–35 см, прилистники перепончатые, листочки 5–7-парные, продолговато-эллиптические, на верхушках тупые, с коротким остроконечием, к основанию округло-клиновидные, с двух сторон прижато-волосистые, 15–30 мм длиной.	Соцветие-кисть, цветки на коротких цветоножках; прицветники нитевидные, перепончатые, до 5 мм длиной, чашечка широко колокольчатая, венчик фиолетовый.	На травянистых склонах гор, на высоте 1800–2000 м.
18	Копеечник пестрый <i>Hedysarum varium</i> Willd. ^{39,40}	Многолетнее растение; стебли восходящие, многочисленны, ветвистые, 20–40 см, прилистники сросшиеся, прижато-волосистые; листочки 3–5-парные, продолговатые или эллиптические, сверху голые, снизу пушистые [13].	Кисти густые, равные листьям или длиннее их; венчик желтый; лодочка на верхушке фиолетовая [13].	Сухой склон [13].
19	Копеечник Гмелина <i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb. ^{41,42}	Многолетнее растение; стебли немногочисленные, почти прямые, опушенные, с прижатыми волосками, внизу 2–3 мм в диаметре, прилистники перепончатые, сросшиеся, листочки 5–11-парные, продолговатые, снизу волосистые, сверху иногда голые, 7–30 мм длиной.	Цветонос длиннее листьев; кисти 15–30-цветковые, густые, под конец удлиненные; прицветники ланцетные, чашечка прижато-волосистая; венчик розово-пурпурный.	По луговым и каменистым степям.
20	Копеечник Джунгарский <i>Hedysarum songaricum</i> Bong. ^{43,44}	Многолетнее растение; стебли хорошо развитые, многочисленны, почти голые, 25–60 см; прилистники пленчатые, нижние сросшиеся при основании, слегка окрашенные, волосистые; листочки 5–8-парные, ланцетные или продолговато-эллиптические, сверху голые, около 20 мм длиной.	Кисти многоцветковые, продолговатые; прицветники пленчатые, ланцетовидные; чашечка колокольчатая, с ланцетно-шиловидными зубцами, венчик розово-фиолетовый.	Растет в степях, на щебнистых и мелкоземлистых склонах в среднем и нижнем поясах гор.
21	Копеечник азербайджанский <i>Hedysarum atropatanum</i> Vge. ex Boiss. ⁴⁵	Многолетнее растение; стебли ветвистые, серебристо-волосистые; прилистники бело-перепончатые, прижато-волосистые; листья короткочерешковые; листочки 4–6-парные, округло-эллиптические или продолговатые, длиной 10–12 мм.	Кисти удлиненные, по 10–15 цветков; чашечка колокольчатая, венчик 14–15 мм длиной розово-фиолетовый.	На глинистых сланцах.
Секция 5. <i>Subacaulia</i>				
22	Копеечник Лемана <i>Hedysarum Lehmannianum</i> Vge. ⁴⁶	Многолетнее растение; стебли неразвитые, прижато-волосистые, 15–35 см; прилистники продолговато-ланцетные, бурые, между собой сросшиеся, прижато-волосистые; листочки 7–12-парные, продолговато-эллиптические, снизу густо прижато-волосистые, сверху опушенные, 10–18 мм длиной.	Кисти довольно скатые, многоцветковые; цветки в количестве 12–20, чашечка оттопырено-волосистая, зубцы ланцетно-шиловидные; венчик пурпуровый.	На каменистых горных склонах, по кустарникам в субальпийских степях.
23	Копеечник однолисточковый <i>Hedysarum monophyllum</i> Boriss. ⁴⁷	Многолетнее растение, 5–12 см, шелковисто-волосистое; прилистники черепитчато расположены при основании листьев, шелковистые от прижатых волосков; листочки простые, прикорневые, с округло-яйцевидной пластинкой, шелковистые от прижатых волосков, на верхушке округлые или островатые, иногда выемчатые, у основания округлые, 10–40 мм длиной.	соцветие округло-головчатое, компактное, прицветники яйцевидные, снаружи беловолосистые, чашечка ширококолокольчатая, венчик сухой, желтоватый.	На каменистых и глинистых склонах гор, на высоте до 2500 м.

³⁸ Там же³⁹ Там же.⁴⁰ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа, 1952.⁴¹ Флора Сибири *Favosae* (*Leguminosae*), 1994.⁴² Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.⁴³ Там же.⁴⁴ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China, 2010.⁴⁵ Федченко Б.А. Флора СССР. Семейство *Leguminosae*, 1948.⁴⁶ Там же.⁴⁷ Там же

№	Название вида	Жизненная форма, листья	Элементы соцветия, строение цветка	Фитоценотический тип
24	Копеечник крупноцветковый <i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall. ⁴⁸	Многолетнее растение; стебли неразветвленные, реже – сильно укороченные, прилистники крупные, кожистые, перепончатые, сросшиеся, бурые, рассеянно-волосистые; листочки 1–4-парные, яйцевидные или широкоэллиптические, снизу густо серебристо-шелковистые, 20–30 мм длиной [13].	Кисти многоцветковые, с отклоненными цветками; прицветники ланцетные, светло-бурые, волосистые, чашечка колокольчатая; венчик желтый или пурпурово-фиолетовый [13].	Лесостепь, каменистые и тимьянниковые степи, щебнистые и глинисто-известняковые склоны, известняках, меловых степях, на обнажениях мела и мергеля [13].
25	Копеечник ферганский <i>Hedysarum ferganense</i> Korsh. ^{49,50}	Многолетнее растение; стебли почти неразветвленные 10–30 см, листочки 4–7-парные, продолговатые или эллиптические, покрытые короткими белыми, прижатыми волосками; на верхней поверхности листочков опушение менее густое, 10–18 мм длиной.	Прицветники буроватые, ланцетные; кисть густая; чашечка колокольчатая, зубцы ее линейные, в 2–3 раза длиннее трубки, покрытые прижатыми или несколько отпыренными волосками; венчик лилово-фиолетовый.	На горных лугах, на каменистых и щебнистых склонах.
26	Копеечник Понсена <i>Hedysarum Ponsanii</i> B.Franchet. ⁵¹	Многолетнее растение; стебли неразветвленные, густо бело-войлочное, 5–10 см, прилистники бело-перепончатые, со слабой примесью коричневатой окраски; листочки 3–4-парные, продолговато-обратнояйцевидные, 5–7 мм длиной.	Кисть сжатая, головчатая; чашечка колокольчатая, зубцы ее линейно-нитевидные, покрыты отстоящими волосками; венчик темно-фиолетовый.	Степи, 2800–3200 м.
27	Копеечник Крылова <i>Hedysarum Krylovi</i> Sumn. ^{52,53}	Многолетнее растение; прилистники белые, пленчатые, прижато-волосистые; листочки 3–7-парные, продолговато-ланцетные, голые или с немного прижатыми волосками, на нижней серебристые, 10–23 мм длиной.	Соцветие многоцветковое, продолговатое, реже яйцевидные, прицветники почти равны трубке чашечки; цветки пурпуровые.	На солонцеватых степях и щебнистых террасах.
28	<i>Hedysarum</i> Копеечник дагестанский <i>dagestanicum</i> Rupr. ex Boiss. ^{54,55,56,57}	Многолетнее растение; серого цвета от прижатого опушения; прилистники сросшиеся; листья с обеих сторон покрыты шелковистым опушением; листочки 2–3-парные, продолговато-яйцевидно-ланцетные, острые, верхушечный листочек более крупный, длиной до 18 мм [13].	Кисти немногочетковые, густые; цветки крупные, кремово-белые или фиолетовые [13].	Известковые и сухие травянистые склоны, каменистые места, от 800 до 1500 м над у.м. [13].
Секция б. <i>Crinifera</i>				
29	Копеечник крупноцветный <i>Hedysarum macranthum</i> Freyn. et Sint. ⁵⁸	Многолетнее растение; бесстебельное или почти бесстебельное, 20–30 см; прилистники шелковистые, сросшиеся между собою, ланцетные; листочки 5–7-парные.	Цветоносы длиннее листьев, длиннозаостренные; прицветники, волосистые, чашечка широко колокольчатая.	На каменистых и щебнистых склонах.
30	Копеечник бухарский <i>Hedysarum bucharicum</i> B.Fedtsch. ⁵⁹	Многолетнее растение; стебли тонкие, восходящие, прижато-волосистые; прилистники бледные, сросшиеся основаниями, треугольно-ланцетные; листочки 5–8-парные, продолговато-ланцетные, 14–18 мм длиной.	Кисти негустые; цветки в количестве 12–25; прицветники неоппадающие; венчик ярко-фиолетовый.	Гипсы и известняки, среди арчового редколесья, и полинно-разнотравных сообществах.

⁴⁸ Там же.⁴⁹ Там же.⁵⁰ Wu Z.Y., Raven P.H., Hong D.Y. Flora of China, 2010.⁵¹ Там же.⁵² Там же.⁵³ Флора Сибири *Fabaceae (Leguminosae)*, 1994.⁵⁴ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.⁵⁵ Литвинская С.А., Муртазаев Р.А. Флора Северного Кавказа: Атлас-определитель. – Москва: Фитон XXI, 2013. – 688 с.⁵⁶ Гроссгейм А.А. Флора Кавказа, 1952.⁵⁷ Галушко А.И. Флора Северного Кавказа: определитель в 3-х т. – Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского университета, 1980. – Т. 2. – 352 с.⁵⁸ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.⁵⁹ Там же.

Таблица 2 – Хромосомные числа видов рода *Hedysarum* L.

№	Название вида ^{60,61,62,63}	Номер в GenBank ⁶⁴	Хромосомный набор
Секция 1. <i>Fruticosa</i>			
1.	<i>Hedysarum fruticosum</i> Pall.[13]	–	2n=16
Секция 2. <i>Spinosissima</i>			
2.	<i>Hedysarum flexuosum</i> L.	AY775312	2n=16
Секция 3. <i>Obscura</i>			
3.	<i>Hedysarum arcticum</i> B. Fedtsch.	KP338151	2n=14
4.	<i>Hedysarum inundatum</i> Turcz.	KP338170	2n=8, 2n=28
5.	<i>Hedysarum consanguineum</i> DC.	NSK0066399 (MN330061); NSK0009881 (MN330060)	2n=14
6.	<i>Hedysarum austrosibiricum</i> B. Fedtsch.	NSK0066407 (MN330048); NSK0066410 (MN330049); NSK0066404 (MN330050)	2n=14
7.	<i>Hedysarum hedysaroides</i> L. [16]	KP338168	2n=14
8.	<i>Hedysarum neglectum</i> Ldb.	KY366160	2n=14
9.	<i>Hedysarum caucasicum</i> M. Bieb.	GQ246060; LC404211; RC – исследуемый объект	2n=14
10.	<i>Hedysarum Semenovii</i> Rgl. et Herd.	KP338183	–
11.	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	AB854490	2n=14
12.	<i>Hedysarum vicioides</i> Turcz.	HM142304	2n=14
13.	<i>Hedysarum ussuriense</i> I. Schischk & Kom.	KP338190	2n=16
14.	<i>Hedysarum theinum</i> Krasnob.	NSK0009301 (MN330062)	–
Секция 4. <i>Multicaulia</i>			
15.	<i>Hedysarum formosum</i> Fisch. et Mey.	AB854494; KP338165	–
16.	<i>Hedysarum atropatanum</i> Bge. ex Boiss.	KP338154	–
17.	<i>Hedysarum kopetdaghi</i> Boriss.	JX455133	–
18.	<i>Hedysarum varium</i> Willd.	KP338191	–
19.	<i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb. [15]	KP338166	2n=28
20.	<i>Hedysarum songaricum</i> Bong.	KP338186	–
Секция 5. <i>Subacaulia</i>			
21.	<i>Hedysarum Lehmannianum</i> Bge.	AB854496	–
22.	<i>Hedysarum monophyllum</i> Boriss.	AB854498	–
23.	<i>Hedysarum grandiflorum</i> Pall.	исследуемый объект	–
24.	<i>Hedysarum ferganense</i> Korsh.	KP338164	–
25.	<i>Hedysarum setigerum</i> Turcz.	–	2n=28, 32, 48
26.	<i>Hedysarum Poncinsii</i> B. Franchet.	KY366161	–
27.	<i>Hedysarum Krylovii</i> Sumn.	KP338173	–
Секция 6. <i>Crinifera</i>			
28.	<i>Hedysarum macranthum</i> Freyn. Et Sint.	KP338177	2n=16
29.	<i>Hedysarum bucharicum</i> B. Fedtsch.	GQ246057	–

Таблица 3 – Содержание ксантонов в различных видах рода *Hedysarum* L.

№	Название вида	Сумма ксантонов
Секция 3. <i>Obscura</i>		
1.	<i>Hedysarum austrosibiricum</i> B.Fedtsch.	3,0
2.	<i>Hedysarum neglectum</i> Ldb.	3,6
3.	<i>Hedysarum flavescens</i> Rgl. et Schmalh.	5,5
4.	<i>Hedysarum caucasicum</i> M.Bieb.	4,0
5.	<i>Hedysarum alpinum</i> L.	6,0
6.	<i>Hedysarum theinum</i> Krasnob.	3,1
Секция 4. <i>Multicaulia</i>		
7.	<i>Hedysarum Gmelinii</i> Ldb.	1,2

Часть исследованных нами видов формирует хорошо поддерживаемые клады, что можно сказать о видах, отнесенных к секции *Obscura*. В результате исследований проведен комплексный эколого-морфологический и молекулярно-генетический анализ, позволяющий провести корреляцию между морфоло-

гическими, эколого-фитоценоотическими, молекулярно-генетическими показателями. Из 309 видов рода копеечник, который относится к семейству *Fabaceae*, на территории Российской Федерации произрастает 29 видов, во флоре Кавказа встречается 17 видов.

Род *Hedysarum* L. включает в себя 6 секций: *Fruticosa*,

⁶⁰ Степанов Н.В. Сосудистые растения Приенисейских Саян, 2016.

⁶¹ Флора Сибири *Fabaceae* (*Leguminosae*), 1994.

⁶² Болховских З.В., Гриф В.Г., Захарьева О.И., Матвеева Т.С. Хромосомные числа цветковых растений. – Л.: Наука, 1969. – 927 с.

⁶³ Castroviejo S., et al. Flora Iberica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares / *Leguminosae* VII(II) (partim), 2000.

⁶⁴ GenBank. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>.

Spinossissima, *Obscura*, *Multicaulia*, *Subacaulia*, *Crinifera*. Приведены такие морфологические показатели, как жизненная форма, особенности строения листьев, элементы строения генеративных органов (цветок и плод). Кроме того, для каждого вида указываются эколого-фитоценоотические характеристики, включая особенности произрастания и высотный уровень (таблица 1).

При анализе полученных данных следует отметить предполагаемую корреляцию между ареалом произрастания высокогорных видов, обитающих преимущественно на скалах, галечниках, осыпях, в субальпийском и альпийском поясе с увлажненным типом почвы и пурпуровой или розово-фиолетовой окраской лепестков венчика. Примерами могут служить такие виды, как: *Hedysarum flexuosum* L., *Hedysarum arcticum* B. Fedtsch., *Hedysarum inundatum* Turcz., *Hedysarum austrosibiricum* B. Fedtsch., *Hedysarum hedysaroides* L., *Hedysarum neglectum* Ldb., *Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum alpinum* L., *Hedysarum theinum* Krasnob., *Hedysarum kopetdaghi* Boriss., *Hedysarum songaricum* Bong.

При этом можно выделить группу желто-цветковых копеечников, произрастающих преимущественно на солонцеватых, сухих известняковых склонах с низким уровнем увлажненности почвы, на галечниках, на глинистых сланцах. Данные виды можно отнести к группе кальцефилов, среди них *Hedysarum Semenovii* Rgl. et Herd., *Hedysarum vicioides* Turcz., *Hedysarum ussuriense* I. Schischk. & Kom., *Hedysarum formosum* Fisch. et Mey., *Hedysarum varium* Willd., *Hedysarum grandiflorum* Pall. Проведен анализ хромосомных чисел видов рода *Hedysarum* [35, 36]. Результаты приведены в таблице 2.

Изучен химический состав видов рода *Hedysarum* L. на предмет накопления основной маркерной группы биологически активных веществ – ксантонового гликозида мангиферина [37–40]. Результаты приведены в таблице 3.

Исходя из вышесказанного, можно сделать заключение, что для видов секции *Obscura* характерно максимальное накопление ксантоновых гликозидов, преимущественно мангиферина. Так, для *Hedysarum alpinum* L. содержание составило 6,0%; *Hedysarum flavescens* Rgl. et Schmalh – 5,5%; *Hedysarum theinum* Krasnob. – 3,1%.

На основании проведенных исследований можно предположить несколько направлений филогенетических закономерностей, касающихся корреляции между химическим составом основных групп биологически активных веществ, участвующих в метаболизме данного рода, в том числе маркерного ксантонового гликозида мангиферина, и изменением окраски лепестков венчика. Отдельным направлением можно считать возможную корреляцию эколого-фитоценоотической характеристики произрастания видов и накопления основных групп ксантонов. Результатом проведенного молекулярного анализа может служить предположение о том, что можно составить прогноз дополнительных сырьевых источников мангиферина и других групп ксантонов из представителей секции *Obscura*. Анализ филогенетических взаимоотношений видов представителей данной

секции рода *Hedysarum* L. подтверждает морфологическую классификацию данного рода.

Для секции *Obscura*, к которой относятся более 20 видов, в том числе изученный нами копеечник кавказский, характерны схожие морфологические и эколого-фитоценоотические показатели. По данным GenBank⁶⁵ практически все указанные виды относятся к данной секции, что полностью подтверждает соответствие классического таксономического и молекулярно-генетического метода. Для данной секции характерно значительное накопление мангиферина – от 3,0 до 6,0%. В надземной части копеечника кавказского нами обнаружено до 4,0% суммы ксантонов в пересчете на мангиферин. Следует отметить, что данная группа видов произрастает преимущественно в альпийском и субальпийском поясе и имеет характерную фиолетово-пурпурную окраску лепестков венчика.

Для секции *Subcaulia*, к которой относятся 22 вида, характерны аридные местообитания, сухие каменистые известняковые склоны. Данная группа кальцефильна, имеет преимущественно желтую окраску лепестков венчика. Представители данной секции, в том числе копеечник крупноцветковый, накапливают незначительное количество ксантонов – от 0,05 до 0,1%.

При анализе полученных данных хотелось бы отметить, что наблюдаемая корреляция на примере представителей рода *Hedysarum* позволяет не только установить степень филогенетического родства различных таксонов [8, 9, 40–45], но и представить совокупность хемотаксономических признаков, характерных для определенных видов на примере семейства *Fabaceae*, что в дальнейшем может быть использовано при проведении фармакогностических исследований и разработке нормативной документации на лекарственное растительное сырье.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получены предварительные результаты, позволяющие провести комплексную идентификацию изученных образцов 3-х видов рода *Hedysarum* L. (*Hedysarum caucasicum* M. Bieb., *Hedysarum daghestanicum* Rupr. ex Boiss., *Hedysarum grandiflorum* Pall.), произрастающих в различных высокогорных участках Северного Кавказа. Представлены предварительные результаты применения молекулярно-генетических методов исследований при анализе рода *Hedysarum* L., впервые идентифицированы нуклеотидные замены в последовательности гена 5.8S рРНК трех видов рода *Hedysarum* L., представлено филогенетическое древо рода копеечник.

Следует отметить, что наблюдаемая корреляция накопления вторичных метаболитов ксантонового ряда и эколого-фитоценоотической характеристики могут послужить в дальнейшем для выделения видов секции *Obscura* для поиска дополнительных сырьевых источников мангиферина и его производных, обладающих выраженной противовирусной активностью.

Полученные данные могут быть в дальнейшем использованы при составлении нормативной документации на лекарственное растительное сырье с учетом развития современной молекулярной фармакогнозии.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках Государственного задания № АААА-А18-118040290161-3 и гранта СПбГУ, грант № 60256916.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.Р. Имачуева – постановка эксперимента, обсуждение результатов; Ф.К. Серебряная – руководство проектом, сбор растительного материала, обсуждение результатов; Э.М. Мачс – постановка эксперимента, обсуждение результатов; В.В. Коцеруба – руководство проектом, обсуждение результатов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гончаров М.Ю., Пovyдыш М.Н., Яковлев Г.П. Молекулярная филогения трибы *Vaphieae* (*Fabaceae*) на основании анализа последовательностей гена МАТК // Ботаника в современном мире. Труды XIV Съезда Русского ботанического общества и конференции «Ботаника в современном мире» (г. Махачкала, 18–23 июня 2018 г.). – Махачкала: АЛЕФ, 2018. – Т. 1. – С. 26–28.
2. Пovyдыш М.Н., Гончаров М.Ю., Яковлев Г.П., Родионов А.В. Молекулярно-генетические методы в фармакогнозии // Фармация. – 2007. – №6. – С. 47–48.
3. Родионов А.В., Ким Е.С., Носов Н.Н., Райко М.П., Мачс Э.М., Пунина Е.О. Молекулярно-филогенетическое исследование видов рода *Colpodium sensu lato* (*Poaee*, *Roaceae*) // Экологическая генетика. – 2008. – Т.6, №4. – С. 34–46. DOI: 10.17816/ecogen6434-46.
4. Супрун Н.А. Шанцер И.А. Генетическая изменчивость видов родства *Hedysarum grandiflorum* Pall. (*Fabaceae*) по данным ISSR маркирования // Бюл. Глав. бот. сада. – 2012. – Т. 198, №4. – С. 41–48.
5. Филюшин М.А., Кочиева Е.З. Анализ варибельности гена 5.8S рРНК у представителей третьей эволюционной группы рода *Allium* // Генетика. – 2014. – Т. 50, №10. – С. 1263–1268.
6. Jin Z., Jiang W., Yi D., Pang Y. The complete chloroplast genome sequence of *Sainfoin* (*Onobrychis viciifolia*) // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.2. – P. 496–498. DOI: 10.1080/23802359.2020.1871439.
7. Wei F., Tang D., Wei K. et al. The complete chloroplast genome sequence of the medicinal plant *Sophora tonkinensis* // Sci. Rep. – 2020. – Vol. 10. – Art No.12473. DOI:10.1038/s41598-020-69549-z.
8. Varshney R.K., Pandey M.K., Bohra A., Singh V.K., Thudi M., Saxena R.K. Toward the sequence-based breeding in legumes in the post-genome sequencing era // Theor. Appl. Genet. – 2019. – Vol. 132, No.3. – P. 797–816. DOI: 10.1007/s00122-018-3252-x.
9. Ha J., Lee S.H. Updates on Legume Genome Sequencing // Methods Mol. Biol. – 2020. – Vol. 2107. – P. 1–18. DOI: 10.1007/978-1-0716-0235-5_1.
10. Jiao M.L., Li Z.Y., Zhang F.S., Qin X.M. [Comparison between *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and *Hedysarum polybotrys* based on ITS sequences and metabolomics] // Yao Xue Xue Bao. – 2015. – Vol. 50, No.12. – P. 1625–1631. Chinese.
11. Hong Z., Liao X., Ye Y., Zhang N., Yang Z., Zhu W., Gao W., Sharbrough J., Tembrock L.R., Xu D., Wu Z. A complete mitochondrial genome for fragrant Chinese rosewood (*Dalbergia odorifera*, *Fabaceae*) with comparative analyses of genome structure and intergenomic sequence transfers // BMC Genomics. – 2021. – Vol. 22, No.1. – Art. No.672. DOI: 10.1186/s12864-021-07967-7.
12. Ahangarian S., Kazempour-Osaloo Sh., Maassoumi A.A. Molecular phylogeny of the tribe *Hedysareae* with special reference to *Onobrychis* (*Fabaceae*) as inferred from nrDNA ITS sequences // Iran. J. Bot. – 2007. – Vol. 13, No.2. – P. 64–74.
13. Cao J.N., Han C.R., Yang Y.C. Characterization of the complete chloroplast genome of *Hedysarum polybotrys* var. *alaschanicum* (*Fabaceae*) and its phylogeny // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol.6, No.11. – P. 3312–3313. DOI: 10.1080/23802359.2021.1994900.
14. Chennaoui H., Marghali S., Marrakchi M., Trifi-Farah N. Phylogenetic relationships in the North African genus *Hedysarum* as inferred from ITS sequences of nuclear ribosomal DNA // Genetic Resources and Crop Evolution. 2007. – Vol. 54, No.2. – P. 389–397. DOI:10.1007/s10722-006-0001-9.
15. Zhou Z., Yu M., Ding G., Gao G., He Y. Diversity and structural differences of bacterial microbial communities in rhizocompartments of desert leguminous plants // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, No.12. – e0241057. DOI: 10.1371/journal.pone.0241057.
16. Liu P.L., Wen J., Duan L., Arslan E., Ertugrul K., Chang Z.Y. *Hedysarum* L. (*Fabaceae: Hedysareae*) Is Not Monophyletic – Evidence from Phylogenetic Analyses Based on Five Nuclear and Five Plastid Sequences // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, No.1. – e0170596. DOI: 10.1371/journal.pone.0170596.
17. Hufnagel B., Marques A., Soriano A. et al. High-quality genome sequence of white lupin provides insight into soil exploration and seed quality // Nat. Commun. – 2020. – Vol. 11. – Art. No.492. DOI: 10.1038/s41467-019-14197-9.
18. Beghalem H., Aliliche K., Landoulsi A. Identification and sequence analysis of putative *Sulla* species nod factor receptor // Microb. Pathog. – 2018. – Vol. 117. – P. 88–92. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.01.048.
19. Karudapuram S., Larson S. Identification of *Hedysarum* varieties using amplified fragment length polymorphism on a capillary electrophoresis system // J. Biomol. Tech. – 2005. – Vol. 16, No.4. – P. 318–326.
20. Nazish T., Shabbir G., Ali A., Sami-Ul-Allah S., Naeem M., Javed M., Batool S., Arshad H., Hussain S.B., Aslam K., Seher R., Tahir M., Baber M. Molecular diversity of Pakistani mango (*Mangifera indica* L.) varieties based on microsatellite markers // Genet. Mol. Res. – 2017. – Vol. 16, No.2. DOI: 10.4238/gmr16029560.
21. Aliliche K., Beghalem H., Landoulsi A., Chriki A. Molecular phylogenetic analysis of *Rhizobium sullae* isolated from Algerian *Hedysarum flexuosum* // Antonie Van Leeuwenhoek. – 2016. – Vol. 109, No.7. – P. 897–906. DOI: 10.1007/s10482-016-0688-3.
22. Ávila Robledillo L., Neumann P., Koblížková A., Novák P., Vrbová I., Macas J. Extraordinary Sequence Diversity and Promiscuity of Centromeric Satellites in the *Legume Tribe Fabaeae* // Mol. Biol. Evol. – 2020. – Vol. 37, No.8. – P. 2341–2356. DOI: 10.1093/molbev/msaa090.
23. Choi I.S., Schwarz E.N., Ruhlman T.A., Khiyami M.A., Sabir J.S.M., Hajarrah N.H., Sabir M.J., Rabah S.O., Jansen R.K. Fluctuations in *Fabaceae* mitochondrial genome size and

- content are both ancient and recent // BMC Plant. Biol. – 2019. – Vol. 19, No.1. – Art. No.448. DOI: 10.1186/s12870-019-2064-8.
24. Yan H., Ji Z.J., Jiao Y.S., Wang E.T., Chen W.F., Guo B.L., Chen W.X. Genetic diversity and distribution of rhizobia associated with the medicinal legumes *Astragalus spp.* and *Hedysarum polybotrys* in agricultural soils // Syst. Appl. Microbiol. – 2016. – Vol. 39, No.2. – P. 141–149. DOI: 10.1016/j.syapm.2016.01.004.
 25. Obala J., Saxena R.K., Singh V.K., Kumar C.V.S., Saxena K.B., Tongoon P., Sibiyi J., Varshney R.K. Development of sequence-based markers for seed protein content in pigeonpea // Mol. Genet. Genomics. – 2019. – Vol. 294, No.1. – P. 57–68. DOI: 10.1007/s00438-018-1484-8.
 26. Zhou Z., Yu M., Ding G., Gao G., He Y., Wang G. Effects of *Hedysarum leguminosum* plants on soil bacterial communities in the Mu Us Desert, northwest China // Ecol. Evol. – 2020. – Vol. 10, No.20. – P. 11423–11439. DOI: 10.1002/ece3.6779.
 27. Koenen E.J.M., Ojeda D.I., Steeves R., Migliore J., Bakker F.T., Wieringa J.J., Kidner C., Hardy O.J., Pennington R.T., Bruneau A., Hughes C.E. Large-scale genomic sequence data resolve the deepest divergences in the legume phylogeny and support a near-simultaneous evolutionary origin of all six subfamilies // New Phytol. – 2020. – Vol. 225, No.3. – P. 1355–1369. DOI: 10.1111/nph.16290.
 28. Имачуева Д.Р., Серебряная Ф.К. Современное состояние изученности растений рода Копеечник (*Hedysarum L.*) флоры Кавказа // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, №6. – С. 4–32. DOI: 10.19163/2307-9266-2016-4-6-4-32.
 29. Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochem. Bull. – 1987. – Vol. 19. – P. 11–15.
 30. Sablok G., Rosselli R., Seeman T., van Velzen R., Polone E., Giacomini A., La Porta N., Geurts R., Muresu R., Squartini A. Draft Genome Sequence of the Nitrogen-Fixing *Rhizobium sllae* Type Strain IS123T Focusing on the Key Genes for Symbiosis with its Host *Hedysarum coronarium L.* // Front. Microbiol. – 2017. – Vol. 8. – Art. No.1348. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01348.
 31. de Diego-Diaz B, Treu L, Campanaro S, da Silva Duarte V, Basaglia M, Favaro L, Casella S, Squartini A. Genome Sequence of *Rhizobium sllae* HCNT1 Isolated from *Hedysarum coronarium* Nodules and Featuring Peculiar Denitrification Phenotypes // Genome Announc. – 2018. – Vol. 6; No.4. – e01518–17. DOI: 10.1128/genomeA.01518-17.
 32. Nafisi H., Kazempour-Osaloo Sh., Mozaffarian V., Schneeweiss G.M. Molecular phylogeny and divergence times of the genus *Hedysarum (Fabaceae)* with special reference to section *Multicaulia* in Southwest Asia // Plant Systematics and Evolution. – 2019. – Vol. 305. – P. 1001–1017. DOI: 10.1007/s00606-019-01620-3.
 33. Jones S., Cowan G., MacFarlane S., Mukoye B., Mangeni B.C., Were H., Torrance L. RNA sequence analysis of diseased groundnut (*Arachis hypogaea*) reveals the full genome of groundnut rosette assistor virus (GRAV) // Virus Res. – 2020. – Vol. 277. – Art. No.197837. DOI: 10.1016/j.virusres.2019.197837.
 34. Fu X., Ji X., Wang B., Duan L. The complete chloroplast genome of leguminous forage *Onobrychis viciifolia* // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.3. – P. 898–899. DOI: 10.1080/23802359.2021.1886017.
 35. Павлова Н.С., Пробатова Н.С., Соколовская А.П. Таксономический обзор семейства *Fabaceae*, числа хромосом и распространение на советском Дальнем Востоке // Комаровские чтения. – 1989. – Вып. 26. – С. 20–47.
 36. Кривенко Д.А., Казановский С.Г., Степанцова Н.В., Верхозина А.В., Алексеенко А.Л. Числа хромосом некоторых видов цветковых растений Байкальской Сибири // Turczaninowia. – 2012. – Т. 15, №1. – С. 98–107.
 37. Кукушкина Т.А., Высочина Г.И., Карнаухова Н.А., Селютин И.Ю. Содержание мангиферина и суммы ксантонов в растениях некоторых дикорастущих и интродуцированных видов *Hedysarum (Fabaceae)* // Растительные ресурсы. – 2011. – Вып. 1. – С. 99–105.
 38. Неретина О.В., Громова А.С., Луцкий В.И., Семенов А.А. Компонентный состав видов рода *Hedysarum (Fabaceae)* // Растительные ресурсы. – 2004. – Т. 40, №4. – С. 111–138.
 39. Аслануков А.К., Айрапетова А.Ю., Серебряная Ф.К. Идентификация и количественное определение суммы ксантонов в пересчете на мангиферин в траве копеечника кавказского (*Hedysarum caucasicum* Vieb.) // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Изд-во: Пятигорская ГФА. – 2009. – Вып. 64. – С. 11–13.
 40. Высочина Г. И., Кукушкина Т.А. Биологически активные вещества некоторых видов рода *Hedysarum L.* // Растительные ресурсы. – 2011. – №4. – С. 251–258.
 41. Nie L.Y., Wang A.H., Duan L., Chen H.F., Wang F.G. The complete chloroplast genome of Plateau herb *Chesneya acaulis (Fabaceae)* // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.2. – P. 641–642. DOI: 10.1080/23802359.2021.1878955.
 42. Jin Z., Jiang W., Yi D., Pang Y. The complete chloroplast genome sequence of *Sainfoin (Onobrychis viciifolia)* // Mitochondrial DNA B. Resour. – 2021. – Vol. 6, No.2. – P. 496–498. DOI: 10.1080/23802359.2020.1871439.
 43. Wojciechowski M.F. *Astragalus (Fabaceae)*: a molecular phylogenetic perspective // Brittonia. – 2005. – Vol. 57, No.4. – P. 382–396. DOI: 10.1663/0007-196X(2005)057[0382:AFAMPP]2.0.CO;2.
 44. Nafisi H., Kazempour-Osaloo Sh., Mozaffarian V., Amini-Rad M. *Hedysarum alamutense (Fabaceae-Hedysareae)*, a new species from Iran, and its phylogenetic position based on molecular data // Turk. J. Bot. – 2019. – Vol. 43, No.3. – P. 386–394. DOI: 10.3906/bot-1806-50.
 45. Liu Y., Du H., Li P., Shen Y., Peng H., Liu S., Zhou G.A., Zhang H., Liu Z., Shi M., Huang X., Li Y., Zhang M., Wang Z., Zhu B., Han B., Liang C., Tian Z. Pan-Genome of Wild and Cultivated Soybeans // Cell. – 2020. – Vol. 182, No.1. – P. 162–176. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.023.

АВТОРЫ

Имачуева Джавгарат Руслановна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармации ФГБОУ ВО ДГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-8953-3158. E-mail: djakag01@gmail.com

Серебряная Фатима Казбековна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9409-9344. E-mail: f.k.serebryanaya@pmedpharm.ru

Мачс Эдуард Модрисович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биосистематики и цитологии ФГБУН БИН РАН. ORCID ID: 0000-0001-9347-5379. E-mail: edw.mach@gmail.com

Коцербува Виолетта Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биосистематики и цитологии ФГБУН БИН РАН. ORCID ID: 0000-0003-1872-2223. E-mail: VKotseruba@binran.r