

ISSN 2225-6016

ВЕСТНИК

*Смоленской государственной
медицинской академии*

Том 19, №2

2020



УДК 615.322:582.755

14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2020:2.24

К РАЗРАБОТКЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА РАСТИТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ АНГИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ© Мирович В.М.¹, Посохина А.А.¹, Петухова С.А.¹, Цыренжапов А.В.^{1,2}¹Иркутский государственный медицинский университет, Россия, 664003, Иркутск,

ул. Красного восстания, 1

²Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН, Россия, 664003, Иркутск,

ул. Борцов Революции, 1

*Резюме***Цель.** Установление оптимального соотношения растительных компонентов в композиции ангиопротекторного действия.**Методика.** Обоснование оптимального компонентного состава растительной композиции ангиопротекторного действия по результатам количественного содержания биологически активных веществ и влияния на антиоксидантную активность. Количественное содержание флавоноидов, фенолкарбоновых кислот определяли спектрофотометрическим методом, аскорбиновой кислоты и суммы полифенолов – титриметрическими методами. Антиоксидантную активность исследовали в опытах *in vitro* на сыворотке донорской крови с определением содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегид. Индукцию перекисного окисления вызывали ионами Cu^{2+} .**Результаты.** Составлено 5 растительных композиций, содержащих сырье фармакопейных растений, обладающих антиоксидантным, капилляроукрепляющим, венотонизирующим и противовоспалительным действием. На основании фитохимического анализа извлечений растительных композиций, вариант композиции С содержал наибольшее количество флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, аскорбиновой кислоты, полифенольных соединений, экстрактивных веществ. Изучение антиоксидантной активности вариантов также показало наибольшую активность композиции С.**Заключение.** Теоретически обоснован состав растительной композиции ангиопротекторного действия, включающей сырье 6 фармакопейных растений. Экспериментально установлено оптимальное соотношение компонентов в этой растительной композиции, содержащей наибольшее количество флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, полифенольных соединений, аскорбиновой кислоты, экстрактивных веществ и обладающей высокой антиоксидантной активностью.*Ключевые слова:* растительная композиция, антиоксидантная активность, флавоноиды**TO THE DEVELOPMENT OF THE COMPONENT CONSTITUTION OF THE PLANT COMPOSITION OF ANGIOPROTECTIVE ACTION**Mirovich V.M.¹, Posokhina A.A.¹, Petukhova S.A.¹, Tsyrenzhapov A.V.^{1,2}¹Irkutsk state medical university, 1, Krasnogo vosstaniya St., 664003, Irkutsk, Russia²Scientific center of reconstructive and recovery surgery from the Russian Academy of Medical Science, 1, Borcov Revoljucii, 664003, Irkutsk, Russia*Abstract***Objective.** Establishing the optimal ratio of plant components in the composition of angioprotective action.**Methods.** Justification of the optimal component consists of the plant composition of the angioprotective effect according to the results of the quantitative content of biologically active substances and the effect on antioxidant activity. The quantitative content of flavonoids, phenolcarboxylic acids were determined spectrophotometrically, ascorbic acid and the amount of polyphenols were determined by the titrimetric methods. The antioxidant activity was studied in *in vitro* experiments on donor blood serum with the determination of the content of diene conjugates and malondialdehyde. The peroxidation induction was caused by Cu^{2+} ions.

Results. 5 plant compositions containing raw materials of pharmacopeia plants with antioxidant, capillary-strengthening, venotizing and anti-inflammatory effects were composed. Based on the phytochemical analysis of the extracts of plant compositions, the variant of composition C contained the largest amount of flavonoids, phenolcarboxylic acids, ascorbic acid, polyphenolic compounds, and extractive substances. A study of the antioxidant activity of the variants also showed the highest activity of composition C.

Conclusion. The content of the plant composition of angioprotective action, including the raw materials of 6 pharmacopeia plants, is theoretically substantiated. The optimum ratio of the components in this plant composition containing the highest number of flavonoids, phenolcarboxylic acids, polyphenolic compounds, ascorbic acid, extractive substances and having high antioxidant activity was experimentally established.

Keywords: herbal composition, antioxidant activity, flavonoids

Введение

В настоящее время наблюдается тенденция роста к применению лекарственных растений и препаратов, полученных на их основе. Все большую популярность обретают вопросы создания лекарственных препаратов на основе индивидуального растительного сырья и сборов. Растительные многокомпонентные сборы становятся все более актуальными, поскольку обладают достаточно широким спектром фармакологического действия и имеют минимальные побочные эффекты даже при длительном применении. Постоянно изменяющиеся условия жизни, внедрение компьютерных технологий привели к развитию гиподинамии, и в связи с этим возросло количество хронических заболеваний, в том числе и венозных. На российском фармацевтическом рынке представлен достаточно широкий ассортимент лекарственных препаратов, предназначенных для профилактики и лечения заболеваний вен, однако все они получены синтетическим или полусинтетическим путем. Препаратов растительного происхождения ограничено количество.

Предлагается растительная композиция ангиопротекторного действия, которая включает сырье растений каштана конского, володушки многожилчатой, лабазника вязолистного, аронии черноплодной, земляники лесной, календулы лекарственной. Химический состав семян каштана конского представлен тритерпеновыми соединениями (эсцин, криптоэсцин), кумаринами (эскулетин, эскулин, фраксетин), флавоноидами (кемпферол, кверцетин) [7]. Данная комбинация биологически активных соединений обеспечивает повышение тонуса венозных сосудов, препятствует образованию тромбов, обладает капилляропротекторным действием.

Химический состав травы володушки многожилчатой представлен флавоноидами (кверцетин, изокверцитрин, изорамнетин-3-рутинозид, рутин), тритерпеновыми соединениями, дубильными веществами, аскорбиновой кислотой [10]. Такой комплекс химических соединений подтверждает, что данное растение обладает противовоспалительным действием и Р-витаминной активностью, то есть повышает тонус вен, снижает застой крови, а также уменьшает ломкость капилляров, восстанавливает их проницаемость, при этом улучшается микроциркуляция и лимфоотток.

В качестве сырья лабазника вязолистного нами выбраны цветки, которые так же содержат флавоноиды (кверцетин, спиреозид), фенологликозиды (метилсалицилат, гаультерин), кумарины, дубильные вещества, аскорбиновую кислоту. Цветки лабазника вязолистного обладают противовоспалительным, антиоксидантным, иммуностимулирующим, регенерирующим, антикоагулянтным действием [9].

За счет высокого содержания антоцианов (цианидин-3-глюкозид), флавоноидов (гесперидин, рутин, кверцетин) и аскорбиновой кислоты плоды аронии черноплодной оказывают антиоксидантное и капилляроукрепляющее действие [8]. В цветках календулы лекарственной содержится большое количество каротинолидов (α -каротин, β -каротин, ликопин, виолаксантин, лютеин), тритерпеновых соединений (календулозиды А, В, С, D), а также содержится рутин, хлорогеновая и кофейная кислоты, что подтверждает наличие противовоспалительных и антиоксидантных свойств этого растения [5]. Препараты календулы лекарственной снижают кровяное давление, уменьшают отеки, проявляют седативное действие [3].

Листья земляники лесной содержат аскорбиновую кислоту, флавоноиды (рутин, лютеолин, кверцетин, кемпферол), скополетин, эллаговую, ферулловую, галловую кислоты, дубильные вещества. Листья земляники лесной обладают диуретическим, противовоспалительным, ранозаживляющим, антигипоксическим и антиоксидантным действием [3].

В растительных композициях контролировалось содержание флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, полифенольных соединений, аскорбиновой кислоты и экстрактивных веществ. Флавоноиды (производные флавана, флавонола) обладают противовоспалительной, Р-витаминной активностью и антиоксидантным действием. Фенолкарбоновые кислоты обладают противовоспалительным и антиоксидантным действием. Аскорбиновая кислота участвует во многих видах окислительно-восстановительных реакций, обеспечивает нормальную проницаемость стенок капиллярных сосудов, повышает их эластичность и прочность, проявляет антиоксидантную активность.

Сумму биологически активных веществ, в том числе тритерпеновых соединений, контролировали по содержанию экстрактивных веществ, извлекаемых 50% спиртом этиловым.

Целью исследования явилось установление оптимального соотношения растительных компонентов в композиции ангиопротекторного действия.

Методика

Материалом для проведения испытаний явились образцы лекарственного растительного сырья: каштана конского семена – *Aesculi hippocastani semen* (ТУ 64-4-75-87), володушки многожилчатой трава – *Bupleuri multinervis herba* (ВФС 42-580-76), лабазника вязолистного цветки – *Filipendulae ulmariae flores* (ВФС 42-1777-87), аронии черноплодной сухие плоды – *Aroniae melanocarpae sicco fructus* (ФС.2.5.0003.15), земляники лесной листья – *Fragariae vescae folia* (ФС.2.5.0016.15), календулы лекарственной цветки – *Calendulae officinalis flores* (ФС.2.5.0030.15). Сырье приобретено через аптечную сеть, его качество соответствовало требованиям нормативных документов.

Оптимальное соотношение компонентов для растительной композиции ангиопротекторного действия определено по максимальному содержанию суммы флавоноидов, суммы фенолкарбоновых кислот, суммы полифенольных соединений, аскорбиновой кислоты, экстрактивных веществ, извлекаемых 50% спиртом этиловым и с наибольшей антиоксидантной активностью. У пациентов с венозными заболеваниями наблюдается дисбаланс антиоксидантной системы, что требует регуляции окислительного стресса, поэтому нами учитывалось в составе растительной композиции ангиопротекторного действия не только содержание биологически активных веществ, но и антиоксидантная активность. Для этого было проведено исследование 5 растительных композиций (А, В, С, D, F) с различной комбинацией компонентов (табл. 1).

Таблица 1. Состав растительных композиций с разным количественным соотношением ингредиентов для исследований по разработке лекарственного сбора ангиопротекторного действия

Компоненты	Содержание компонентов, %				
	А	В	С	D	F
Семена конского каштана обыкновенного	10	20	20	30	20
Трава володушки многожилчатой	20	30	20	20	30
Цветки лабазника вязолистного	10	20	30	20	20
Плоды аронии черноплодной сухие	20	10	10	10	20
Листья земляники лесной	20	10	10	10	5
Цветки календулы лекарственной	20	10	10	10	5
Итого	100	100	100	100	100

Примечание: А, В, С, D, F – название растительной композиции

Из растительных композиций готовили извлечения 50% спиртом этиловым в соотношении 2:50 методом мацерации при настаивании в течение 24 ч. при комнатной температуре. Далее извлечения фильтровали, для изучения антиоксидантной активности проводили деалкоголизацию части извлечения, которую доводили до первоначального объема водой очищенной.

Обнаружение биологически активных веществ в растительных композициях проводили в спиртовых и водных извлечениях. В спиртовых извлечениях определяли присутствие флавоноидов (с 10% спиртовым раствором NaOH, 10% спиртовым раствором AlCl₃, проба Синода), кумаринов (лактонная проба, реакция азосочетания). Водные извлечения испытывали на содержание дубильных веществ (с 1% раствором желатина, 1% раствором железа (III) аммония сульфата).

С помощью метода тонкослойной хроматографии на пластинках Sorbfil в растительных композициях определяли присутствие тритерпеновых соединений (система хлороформ – этанол – вода (59:33:8), проявитель концентрированная кислота серная), аскорбиновой кислоты (система этилацетат – уксусная кислота ледяная (80:20), проявитель 0,05% раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия), флавоноидов и фенолкарбоновых кислот (система н-бутанол – кислота уксусная ледяная – вода (4:1:5), проявитель 1% спиртовой раствор AlCl₃, УФ-свет 350 нм).

Количественное содержание флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом, расчет процентного содержания суммы флавоноидов проводили с использованием стандартного образца рутин (ФС 42-2508-87). Содержание суммы фенолкарбоновых кислот определяли спектрофотометрическим методом, расчет процентного содержания вели в пересчете на хлорогеновую кислоту. Количественное определение аскорбиновой кислоты, полифенольных соединений проводили титриметрическими методами, содержание экстрактивных веществ – гравиметрическим методом [4]. Антиоксидантную активность извлечений изучали в опытах *in vitro* на сыворотке донорской крови. Для этого 1 мл деалкоголизованного извлечения смешивали с 2 мл сыворотки донорской крови. Индукцию перекисного окисления липидов вызывали прибавлением 0,1 мл 0,5 М раствора CuSO₄ [6]. В контрольном опыте вместо извлечения прибавляли 1 мл воды очищенной. Реакционную смесь инкубировали при температуре 37°C в течение 24 часов в термостате. Далее проводили определение содержания диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) [1, 2]. Измерение оптической плотности испытуемых растворов проводили на спектрофотометре марки LEKI SS-1207-UV.

Результаты полученных исследований подвергали статистической обработке с помощью статистического пакета Statistica MS Excel. Анализ проводили в шести повторностях (n=6), количественные данные представлены в виде среднего арифметического (M) и ошибки среднего арифметического ($\pm m$). Для выявления статистической значимости различий использовали параметрический критерий Стьюдента (t). Различия считали значимыми при доверительной вероятности $p < 0,05$.

Результаты исследования

В составе биологически активных веществ растительных композиций А, В, С, D, F с использованием качественных реакций и тонкослойной хроматографии обнаружено содержание флавоноидов, кумаринов, тритерпеновых соединений, антоцианов, аскорбиновой кислоты и дубильных веществ. Максимальное количество флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, полифенольных соединений, аскорбиновой кислоты и экстрактивных веществ содержится в извлечении из растительной композиции С (табл. 2).

Таблица 2. Количественное содержание в извлечениях из вариантов растительных композиций флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, аскорбиновой кислоты, полифенольных соединений и экстрактивных веществ

Растительная композиция	Содержание				
	СФЛ, мг%	СФКК, мг%	АК, мг%	ПФС, %	ЭВ, %
А	37,04 \pm 2,1	32,4 \pm 1,2	8,93 \pm 0,24	0,44 \pm 0,02	1,25 \pm 0,04
В	47,01 \pm 1,5	30,8 \pm 1,3	8,91 \pm 0,26	0,49 \pm 0,01	1,27 \pm 0,05
С	55,90 \pm 2,4	38,4 \pm 1,2	8,94 \pm 0,25	0,52 \pm 0,02	1,34 \pm 0,07
D	40,66 \pm 1,3	18,8 \pm 0,6	5,85 \pm 0,15	0,40 \pm 0,01	1,33 \pm 0,03
F	46,12 \pm 2,8	12,0 \pm 0,7	5,94 \pm 0,14	0,35 \pm 0,01	1,28 \pm 0,06

Примечание. А, В, С, D, F – название растительной композиции; СФЛ – сумма флавоноидов, СФКК – сумма фенолкарбоновых кислот, АК – аскорбиновая кислота, ПФС – полифенольные соединения, ЭВ – экстрактивные вещества

При исследовании полученных извлечений из растительных композиций А, В, С, D, F в опытах *in vitro* на содержание ДК и МДА в сыворотке донорской крови человека, нами установлено, что все композиции подавляют образование ДК в сравнении с контрольным образцом (вода очищенная) от 10,50 до 37,00% (табл. 3). Самое большое снижение уровня ДК установлено для растительной композиции С, которое составляет 37,00%.

Таблица 3. Содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в извлечениях из вариантов растительных композиций

Растительная композиция	ДК		МДА	
	Содержание в мкмоль/мл	Ингибирование, в %	Содержание в мкмоль/мл	Ингибирование, в %
А	67,53±5,51	10,50	11,91±0,55	15,78
В	58,54±3,23	22,50	13,08±0,61	7,50
С	47,51±1,49	37,00	4,62±0,45	67,33
D	58,82±3,83	22,00	12,74±0,56	9,90
F	55,54±1,94	26,60	13,23±0,58	6,40
Контроль (вода очищенная)	75,5±3,11	-	14,14±1,02	-

Примечание. А – ; В – ; С – ; D – ; F – название растительной композиции; ДК – диеновые конъюгаты, МДА – малоновый диальдегид

Все тестируемые извлечения, полученные из растительных композиций, ингибируют образование МДА в сыворотке донорской крови (табл.3). По отношению к воде очищенной (контрольный опыт) подавление образования МДА составляет от 6,40 до 67,33%. Растительная композиция С максимально снижает содержание в сыворотке крови МДА.

В растительной композиции С установлено содержание суммы полифенольных соединений – 11,96±0,42%, суммы флавоноидов в пересчете на рутин 4,24±0,13%, суммы фенолкарбоновых кислот 3,31±0,06%, аскорбиновой кислоты – 0,25±0,03%, экстрактивных веществ, извлекаемых водой очищенной – 33,01±0,4%, экстрактивных веществ, извлекаемых спиртом этиловым 50% – 43,60±0,8%.

Обсуждение результатов

Ангиопротектными свойствами обладают флавоноиды, аскорбиновая кислота, тритерпеновые соединения. Влияют на проницаемость стенок капилляров, их эластичность и прочность флавоноиды (кверцетин, рутин, гесперидин), антоцианы (цианидин-3-глюкозид), аскорбиновая кислота. Флавоноиды и другие фенольные соединения защищают аскорбиновую кислоту от окисления и потенцируют влияние друг друга. В медицинской практике, например, используется лекарственное средство «Аскорутин», в состав которого входят флавоноиды - рутин и аскорбиновая кислота. В предлагаемой нами растительной композиции содержится комплекс биологически активных веществ, включающий флавоноиды (рутин, лютеолин, кверцетин, кемпферол), антоцианы (цианидин-3-глюкозид), фенолкарбоновые кислоты, кумарины, дубильные вещества, аскорбиновую кислоту и тритерпеновые соединения. Растительная композиция С содержит максимальное количество фенольных соединений (флавоноидов, фенолкарбоновых кислот), аскорбиновой кислоты, экстрактивных веществ, которые содержат сумму полифенольных и тритерпеновых соединений.

Флавоноиды обладают способностью связывать металлы (ионы железа, меди) в прочные комплексы с образованием каталитически неактивных комплексов и проявляют антиоксидантную активность. Экспериментальные данные показали, что растительная композиция С обладает наибольшей антиоксидантной активностью (ингибирует образование диеновых конъюгатов в сравнении с контролем на 37,00%, а малонового диальдегида – на 67,33%), и она принята нами как базовая для создания лекарственного сбора ангиопротекторного действия.

В состав лекарственного сбора ангиопротекторного действия введено сырье растений, разрешенных к использованию в медицинской практике, в следующих соотношениях: семена конского каштана обыкновенного – 20%, трава володушки многожилчатой – 20%, цветки лабазника вязолистного – 30%, плоды аронии черноплодной сухие – 10%, листья земляники лесной – 10%, цветки календулы лекарственной – 10%.

Заключение

В результате проведенного комплекса испытаний экспериментально установлено, что вариант растительной композиции С имеет высокую антиоксидантную активность, содержит наибольшее количество флавоноидов, фенолкарбоновых кислот, полифенольных соединений, аскорбиновой кислоты, экстрактивных веществ и может быть базовым для создания на её основе растительных средств ангиопротекторного действия.

Литература (references)

1. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33 – 35. [Gavrilov V.B., Mishkorudnaya M.I. *Laboratornoe delo*. Laboratory science. – 1983. – N 3. – P. 33 – 35. (in Russian)]
2. Гончаренко М.С., Латина А.М. Метод оценки перекисного окисления липидов // Лабораторное дело. – 1985. – № 1. – С. 60-61. [Goncharenko M.S., Latinova A.M. *Laboratornoe delo*. Laboratory science. – 1985. – N 1. – P. 60-61. (in Russian)]
3. Гончарова Т.А. Энциклопедия лекарственных растений: (лечение травами): в 2-х т, Т.1. – М: Изд. Дом МСП, 2004. – 560 с. [Goncharova, T.A. *Ehntsiklopediya lekarstvennykh rastenii: (lechenie travami)*. Encyclopedia of medicinal plants: (herbal treatment). – Moskva: Izd. Dom MSP, 2004. – 560 p. (in Russian)]
4. Государственная фармакопея РФ. 14 издание. Т.2. – М, 2018. [Gosudarstvennaya farmakopeya RF. 14 izdanie. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th edition. V.2. – Moskva, 2018. (in Russian)]
5. Кащенко Н.И., Оленников Д.Н. Спектрофотометрический анализ фенольных соединений календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.). Ревизионное исследование существующих методов // Бутлеровские сообщения. – 2014. – Т.37, №.1. – С. 146-155. [Kashchenko N.I., Olennikov D.N. *Butlerovskie soobshcheniya*. Butlerov messages. – 2014. – V. 37, N 1. – P. 146-155. (in Russian)]
6. Шаварда А.Л., Чемесова И.И., Беленовская Л.М. и др. Антиоксидантная активность видов флоры Алтая // Растительные ресурсы. – 1998. – Т.34, вып.2. – С. 1-7. [Shavarda A.L., Chemesova I.I., Belenovskaja L.M. i dr. *Rastitel'nye resursy*. Plant resources. – 1998. – V.34, vyp.2. – P. 1-7. (in Russian)]
7. Шейченко В. И., Азаркова А.Ф., Мешков А.И. и др. Изучение и ЯМР-анализ сухого очищенного экстракта каштана конского обыкновенного (*Aesculus hippocastanum* L.) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т.20. – №.4. – С. 3-10. [Shejchenko V. I., Azarkova A.F., Meshkov A.I. i dr. *Voprosy biologicheskoi, meditsinskoj i farmatsevticheskoi khimii*. Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry. – 2017. – V.20, N.4. – P. 3-10. (in Russian)]
8. Hwang Y., Hwang E. S. Quality characteristics and antioxidant activity of Sulgidduk prepared by addition of aronia powder (*Aronia melanocarpa*) // Korean Journal of Food Science and Technology. – 2015. – V.47, N4. – P. 452-459.
9. Krasnov E.A., Raldugin V.A., Shilova V., Avdeeva E. Yu. Phenolic compounds from *Filipendula ulmaria* // Chemistry of natural compounds. – 2006. – V. 42, N2. – P. 148-151.
10. Olennikov D.N., Partilkhayev V.V. Flavonoids and phenylpropanoids from several species of *Bupleurum* growing in Buryatia // Chemistry of Natural Compounds. – 2013. – V. 48, N6. – P. 1078-1082.

Информация об авторах

Мирович Вера Михайловна – доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: mirko02@yandex.ru

Посохина Алина Алексеевна – аспирант кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: alinapos@yandex.ru

Петухова Светлана Андреевна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: lanaretukhova@gmail.com

Цыренжапов Арсен Владимирович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России и научный сотрудник Научного центра реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН. E-mail: a.tsyrenzhapov@ismu.baikal.ru