

На правах рукописи

Курманова Елена Николаевна

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО**

3.3.6 –фармакология, клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений».

Научный руководитель:

Ферубко Екатерина Владимировна - доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Артюшкова Елена Борисовна – доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины, директор и профессор кафедры фармакологии.

Федотчева Татьяна Александровна – доктор медицинских наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт трансляционной медицины, научно-исследовательская лаборатория молекулярной фармакологии, главный научный сотрудник.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук.

Защита состоится «___» _____ 2023 г. в ___ часов на заседании Диссертационного совета 24.1.158.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Институт экспериментальной медицины» (197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д.12, ФГБНУ «ИЭМ») по адресу 197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., д. 73/75.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д.12, ФГБНУ «ИЭМ» и на сайте <https://iemsrb.ru/external/kurmanova-en/>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Мухин Валерий Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В структуре заболеваемости болезни органов пищеварения занимают 5-е место и являются причиной 4,5% случаев смерти (Официальный сайт Федеральной службы государственной статистики, 2022). Поэтому в последнее время к лекарственным растительным препаратам для лечения и профилактики заболеваний органов пищеварения наблюдается повышенный интерес. Эксперты Всемирной Организации Здравоохранения рекомендуют их применение в лечении примерно 75% больных (Стратегия ВОЗ в области народной медицины, 2016).

В соответствии с Приказом Минздрава России № 66 от 13.02.2013 г. (ред. от 10.09.2019 г.) «Об утверждении Стратегии лекарственного обеспечения населения Российской Федерации на период до 2025 года и плана ее реализации» и Федеральной целевой программой «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2030 года и дальнейшую перспективу» признана необходимость совершенствования системы лекарственного обеспечения населения путем развития отечественной фармацевтической промышленности и создания инновационных лекарственных препаратов для медицинского применения. Наряду с этим, согласно дорожной карте «Превентивная медицина» Национальной технологической инициативы в период до 2035 года, на территории РФ, планируется развитие лекарственного растениеводства, производство лекарственных средств растительного происхождения.

Лекарственные препараты из субстанций растительного происхождения могут применяться практически во всех направлениях медицины, а создание новых лекарственных средств на основе сухих экстрактов в соответствии с современными требованиями является перспективным своевременным направлением науки.

В настоящее время препараты растительного происхождения имеют большое значение в профилактике и лечении заболеваний органов пищеварения. Известно, что в отличие от синтетических, лекарственные растительные средства обладают, как правило, малой токсичностью и лучшей переносимостью, проявляя при этом заметную фармакологическую активность. Это позволяет гораздо шире использовать их для симптоматического, профилактического и восстановительного лечения, а также противорецидивной терапии заболеваний органов пищеварения.

В связи с этим, разработка и внедрение новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов из растительного сырья, предназначенных для профилактики и лечения, является актуальной задачей современной фармакологии.

Степень разработанности темы исследования. Перспективным объектом для разработки лекарственных препаратов из растений при патологии

желудочно-кишечного тракта является володушка золотистая (*Vipleurum aureum* L.). Она издавна применялась в народной медицине на территории России для лечения заболеваний печени и желчевыводящих путей. Растение широко распространено в РФ, что обеспечивает его достаточную сырьевую базу, проведены работы по ботанико-ресурсным исследованиям (Мингажаева А.М.). Проводились фитохимическое изучение данного растения (Лапик А.С., Дьяконова Л.Н., Волхонская Т.А., Зыкова И.Д., Канунникова Ю.С.), научно доказана фармакологическая активность как антигепатотоксического и желчегонного средства (Вогралик В.Г., Мирецкая Т.И., Саратиков А.С., Нехода М.Ф., Мустафина М.К., Джавахян М.А.). Комплекс биологически активных веществ с изученной фармакологической активностью, входящих в состав наземных органов *Vipleurum aureum*, позволит наряду с использованием ресурсосберегающей программы расширить номенклатуру лекарственных средств растительного происхождения на отечественном рынке.

В ФГБНУ ВИЛАР разработан оригинальный способ и технология получения володушки золотистой травы экстракта сухого (ВЗТЭС). Методика валидирована по основным аналитическим критериям. Содержание суммы флавоноидов в экстракте регламентируется не менее 7 %.

Выбор темы диссертационной работы продиктован необходимостью создания новых лекарственных средств растительного происхождения для лечения и профилактики социально значимых заболеваний пищеварительной системы, так как ассортимент таких лекарственных средств ограничен.

Целью настоящих исследований является определение фармакологических свойств и фармакотерапевтической эффективности володушки золотистой травы экстракта сухого для разработки на его основе лекарственного препарата для профилактики и лечения заболеваний органов пищеварения.

Для достижения указанной цели необходимо решение следующих задач:

- изучить противовоспалительную активность ВЗТЭС;
- установить возможные механизмы действия;
- оценить фармакотерапевтическую эффективность ВЗТЭС при экспериментальных язвах желудка у лабораторных животных;
- определить фармакотерапевтическую эффективность ВЗТЭС при повреждениях печени в условиях эксперимента.

Научная новизна. Впервые проведено подробное экспериментальное исследование фармакологических свойств ВЗТЭС. Установлено, что изучаемый экстракт относится к группе «практически нетоксичные вещества» по действующей классификации и проявляет противовоспалительную активность. Противовоспалительный эффект экстракта включает антиэкссудативное, антиальтеративное и антипролиферативное действие. Доказано, что одним из механизмов противовоспалительного действия ВЗТЭС является

непосредственное ингибирующее воздействие на активность циклооксигеназы (ЦОГ) арахидоновой кислоты. Установлена также способность экстракта ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, мембраностабилизирующая активность ВЗТЭС.

На основных моделях заболеваний желудка установлена фармакотерапевтическая эффективность изучаемого объекта, превосходящая по действию препарат сравнения. Полученный экстракт повышает резистентность слизистой желудка, ускоряет регенерацию, способствует нормализации морфофункционального состояния желудка на более ранних сроках патологического процесса. При курсовом его введении животным с повреждениями слизистой желудка наблюдается закономерное уменьшение площади язвенного поражения слизистой желудка, что характеризует ВЗТЭС как эффективное гастропротективное средство.

В работе впервые выявлена фармакотерапевтическая эффективность ВЗТЭС при экспериментальных повреждениях печени. Установлено, что ВЗТЭС оказывает выраженное гепатопротективное влияние при тетрахлорметановом и тетрациклиновом гепатитах. Его курсовое введение животным в экспериментально-терапевтической дозе при поражениях печени сопровождается снижением явлений цитолиза и холестаза с ограничением структурных нарушений, ускоренной инволюцией их и активацией регенераторных процессов.

Научная новизна исследований подтверждена патентом РФ 2637644.

Теоретическая и практическая значимость работы. В данной работе экспериментально обоснованы возможность и целесообразность коррекции функций желудка и печени ВЗТЭС при повреждениях, что позволяет рекомендовать его для дальнейшего изучения с целью создания нового эффективного и безопасного растительного препарата для комплексной фармакотерапии заболеваний желудка и печени.

Материалы исследований используются в учебном процессе при проведении практических занятий со студентами, ординаторами, аспирантами, а также в научно-исследовательской работе на кафедре фармации медицинского института Бурятского государственного университета Министерства науки и высшего образования РФ (Акт внедрения от 20.09.2022 г.). Полученные результаты способствуют приобретению практических навыков доклинического изучения растительных экстрактов, применяемых для профилактики и лечения язвенной болезни желудка и заболеваний гепатобилиарной системы.

Также результаты диссертационной работы внедрены в учебный и научно-исследовательский процесс кафедры фармакогнозии с курсом ботаники и основ фитотерапии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (Акт внедрения от 27.06.2022 г.).

Материалы исследований использованы в работе ООО «Травы Башкирии».

Положения, выносимые на защиту:

1. Володушки золотистой травы экстракт сухой относится к практически нетоксичным веществам по действующей классификации.

2. Изучаемый экстракт проявляет выраженную противовоспалительную активность: антиэкссудативное действие, антипролиферативную активность, а также оказывает антиальтеративное действие.

3. Одним из возможных механизмов противовоспалительного действия экстракта является его непосредственное ингибирующее воздействие на активность циклооксигеназы арахидоновой кислоты.

4. Выявлена способность экстракта володушки ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, мембраностабилизирующая активность.

5. Экстракт оказывает гастропротективное влияние при экспериментальных повреждениях желудка.

6. Экстракт володушки в условиях моделей гепатита у крыс обладает гепатопротективными и детоксицирующими свойствами.

Методы исследования. Исследования проведены на сертифицированных лабораторных животных с применением современных информативных методов. При выполнении работы использованы экспериментальные модели различных фаз воспалительного процесса, повреждений желудка и печени, адекватные поставленным задачам, статистические методы анализа и обработки результатов.

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, постановке цели и задач, обосновании объектов исследования, проведении фармакологических исследований, обобщению полученных данных и их статистической обработке, подготовке основных публикаций по выполненной работе, оформлены рукописи диссертации и автореферата.

Связь задач исследований с проблемным планом. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» по теме № FNSZ-2019-0009 «Проведение доклинических исследований отдельных фракций, субстанций и лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья».

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов подтверждена многократной повторностью экспериментов; исследованием фармакологической активности на экспериментальных моделях, статистической обработкой полученных данных и их сопоставлением с данными литературы.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: международной научно-практической конференции

«Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине» (Москва, 2016); XXIII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2016); IV научно-практической конференции аспирантов и молодых учёных с международным участием «Молодые ученые и фармация XXI века» (Москва, 2016); 23 Объединённой Российской гастроэнтерологической неделе (Москва, 2017); шестой научно-практической конференции аспирантов и молодых учёных «Молодые учёные и фармация XXI века» (Москва, 2018), V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018); IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием на базе ГТТУ и ЗАО «ЭКОлаб» «Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации» (Москва, 2022); международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Ташкентского фармацевтического института «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Ташкент, 2022).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликованы 19 работ, в том числе 10 статей в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 1 статья в базе данных Scopus, изданы 2 монографии, получен 1 патент РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 130 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 201 источник, в том числе 57 – на иностранных языках. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 13 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования служил володушки золотистой (*Bupleurum aureum* L.) травы экстракт сухой (ВЗТЭС).

ВЗТЭС представляет собой аморфный гигроскопичный порошок желто-коричневого цвета со специфическим запахом, горького вкуса, срок годности 2 года. Образцы, заложенные в упаковке, предусмотренной в проекте НД, хранились 2 года 6 месяцев. Качественный состав БАВ экстракта сухого исследован с использованием общеизвестных реакций по методикам, изложенным в ГФ XIV, а также методами ТСХ и ВЭЖХ. ВЭЖХ-анализ проводили на хроматографе Agilent 1100 Series HPLC («Agilent Technologies», США). Качественными реакциями, а также хроматографией в тонком слое сорбента подтверждено присутствие в исследуемом объекте флавоноидов, дубильных веществ и сапонинов. При этом установлено присутствие лутеолина, кверцетина, кемпферола, изорамнетина, рутина, гиперозида, астрагалина. Установлено присутствие фенолкарбоновых кислот (феруловая, кофейная, 4-кофеоилхинная, розмариновая). Содержание дубильных веществ в ВЗТЭС в пересчете на (+) - катехин составляет $7,2\% \pm 0,5$; сапонинов в пересчете на

олеаноловую кислоту – $8,4\% \pm 0,3$; сумма полисахаридов в пересчете на глюкозу составляет $1,80\% \pm 0,15$. Изучен аминокислотный состав ВЗТЭС, дана количественная оценка аминокислот. В результате анализа в исследуемом образце обнаружены следующие незаменимые аминокислоты (валин – $0,12\%$, лизин – $0,15\%$, треонин – $0,07\%$, гистидин – $0,3\%$, аргинин – $0,14\%$) и заменимые (аланин – $0,15\%$, цистеин – $0,95\%$, глицин – $0,05\%$, тирозин – $0,45\%$). Проанализирован элементный состав изучаемого объекта. Установлено, что в ВЗТЭС из микроэлементов преобладают марганец ($2316,72$ мг/кг), железо ($1973,88$ мг/кг), цинк ($403,59$ мг/кг), из макроэлементов – калий ($5,23\%$), кальций ($5,09\%$). Определение суммы экстрактивных веществ проводили по методике, описанной в ГФ XIV. Количественную оценку суммы флавоноидов проводили методом спектрофотометрии на спектрофотометре UV-1800 («Shimadzu», Япония) в пересчете на рутин-стандарт. Содержание суммы флавоноидов в готовом продукте регламентируется не менее 7% .

Фармакологические исследования выполняли согласно Решению Совета ЕЭК от 03.11.2016 №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики ЕАЭС», Национальному стандарту Российской Федерации ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.). Эксперименты на животных проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes, Strasbourg, 1986). Исследования выполняли по согласованному письменному плану и в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя; согласно санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область).

Экспериментальная работа выполнена на 306 белых нелинейных крысах самцах массой $180-200$ г и на 140 белых нелинейных мышах самцах массой $18,0-22,0$ г. Животных содержали в условиях сертифицированного вивария ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе. Дизайн исследований одобрен биоэтической комиссией института. Эксперименты проводились с октября по май, животные перед экспериментальными исследованиями находились на карантине 14 дней.

Острую токсичность полученного экстракта определяли по методу Кербера (Сернов и др., 2000) на белых нелинейных мышах самцах с исходной массой $18,0-22,0$ г при введении *per os* с помощью внутрижелудочного зонда в виде водных растворов.

Противовоспалительную активность ВЗТЭС изучали на основе комплексной оценки его влияния на различные фазы острого воспалительного процесса: экссудативный компонент, альтеративную фазу и пролиферативную стадию воспалительного процесса в условиях соответствующих

экспериментальных моделей. Экстракт исследовали в экспериментально-терапевтических дозах: 10 и 100 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовался индометацин («Софарма», Болгария) в дозе 5 мг/кг.

Антиэкссудативный эффект ВЗТЭС изучали на модели острого формалинового отека. Для воспроизведения модели однократно в апоневроз вводили 0,1 мл 1% формалина (Тринус, 1974). Исследование экстракта проводили в течение пяти дней до введения формалина и индометацина через 1 час после. Контрольные животные получали в эквивалентном объеме воду очищенную. Через три часа на пике воспаления животных выводили из эксперимента с помощью CO₂ и регистрировали прирост объема экссудата ампутированных конечностей мышей (мг) по разнице в массе у контрольных и опытных животных и рассчитывали противоекссудативный эффект по формуле: % угнетения отека = $P_k - P_o / P_k \times 100$, где P_k – разность масс лапок с отеком и без отека у животных контрольной группы; P_o – разность масс лапок с отеком и без отека у животных опытной группы.

Влияние экстракта на процессы альтерации и регенерации изучали на модели острого асептического воспаления. Альтеративную фазу воспалительной реакции моделировали подкожным введением крысам 0,5 мл 9% раствора уксусной кислоты в область спинки, одновременно внутрибрюшинно вводили раствор декстрана в дозе 300 мг/кг (Шварц, Сюбаев, 2012). Экстракт растворяли в воде очищенной и вводили внутривентрикулярно животным опытных групп в дозе 10 мг/кг и 100 мг/кг в за 1 час до введения раствора уксусной кислоты, а затем 1 раз в сутки в течение 28 дней. Контрольным животным вводили воду очищенную по аналогичной схеме. Антиальтеративную активность экстракта определяли планиметрическим методом по степени развития некроза и регенерации тканей на 7, 14, 21 и 28 сутки.

Влияние ВЗТЭС на процессы пролиферации изучали на модели «ватной гранулемы» (Руководство, 2012). Для воспроизведения модели «*cotton pellet*» стерильные ватные шарики массой 4,0±1,0 мг имплантировали под кожу мышей в подмышечную область. Операцию выполняли в асептических условиях под легким эфирным наркозом. Исследуемые вещества вводили внутривентрикулярно после имплантации и в течение последующих 7 дней в утренние часы, за 1 час до кормления. На 8-е сутки мышей выводили из эксперимента с помощью CO₂. Затем производили извлечение гранулем. Гранулемы взвешивали сначала во влажном состоянии, а затем в высушенном до постоянной массы при температуре 80°C. Пролиферативную активность исследуемых веществ высчитывали по разнице между массой сухой и влажной гранулемы.

Для выявления предполагаемого механизма действия было изучено влияние ВЗТЭС на активность ЦОГ, а также на его мембраностабилизирующие и антиоксидантные свойства. Влияние ВЗТЭС на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro* определяли полярографически по поглощению кислорода по методу Вейна (Vane, 1996). Антиоксидантную активность определяли с

использованием модели деградации β -каротина (Lee et al., 1995). Оценку мембраностабилизирующей активности ВЗТЭС осуществляли по степени гемолиза эритроцитов, который вызывали реактивом Фентона (перекисный гемолиз), а также добавлением воды дистиллированной (осмотический гемолиз) (Ковалев и соавт., 1986).

Определение гастропротективной активности экстракта в дозах 10 и 100 мг/кг и препарата сравнения плантаглоцида (ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия) в дозе 250 мг/кг проводили при острой этаноловой язве у крыс, острой индометациновой язве у крыс и субхронической бутадионовой язве у крыс (Руководство, 2012).

Для воспроизведения этаноловой язвы желудка использовали однократное введение крысам спирта этилового 96% в дозе 1,0 мл на животное с последующей эвтаназией крыс в CO₂ камере через 1 час после введения спирта этилового. Затем желудок и двенадцатиперстную кишку крыс извлекали, разрезали и промывали в физиологическом растворе. При помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение $\times 8$, с миллиметровой шкалой) производили подсчет площади язвенных поражений слизистой, вычисляли Индекс Паулса (ИП): $ИП = A \cdot B / 100$, где А – среднее количество язв на одно животное; В – количество животных с язвами в группе. Затем вычисляли терапевтический эффект (ТЭ) по формуле: $ТЭ = ИП \text{ контроль} / ИП \text{ опыт}$, где ИП контроль – Индекс Паулса в контрольной группе животных, а ИП опыт – Индекс Паулса в опытной группе животных. (Руководство, 2012).

Для воспроизведения острой индометациновой язвы желудка использовали однократное введение крысам индометацина в дозе 30 мг/кг, суспендированного в 1% крахмальном геле, с последующим выводом крыс из эксперимента с помощью эвтаназии в CO₂ камере через 24 часа после введения данного ulcerogena (Руководство, 2012).

Внутрибрюшинным введением бутадиона («Мир-Фарм» ЗАО, Россия) в дозе 100 мг/кг воспроизводили язвенное поражение слизистой желудка. Бутадион вводили один раз в сутки в течение трех дней. С четвертого дня опытным крысам вводили в желудок ВЗТЭС и плантаглоцид в течение 10 дней один раз в сутки. Контрольным крысам в аналогичном режиме вводили эквивалентное количество воды очищенной. Эвтаназию животных проводили в CO₂ камере на 7, 14 и 21 сутки с начала опытов. Патоморфологические исследования желудка проводили на 7, 14, 21 сутки с использованием гистологических методик (Руководство, 2012). Для оценки морфологических изменений желудка животных фиксировали в 10% забуференном нейтральном формалине с последующей стандартной спиртовой проводкой и заливкой в парафин по общепринятой методике (Коржевский, Гиляров, 2010), из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4-6 мкм. Микроскопическое строение оценивали при окраске срезов гематоксилином и эозином. Исследования проводили с помощью микроскопа «Axio LAB.A1» с цифровой камерой «AxioCam ERc5s» и

программным обеспечением для анализа изображений Axio Vision SE64 Rel.4.8.3 и ZEN 2012.

Гепатопротективную эффективность изучаемого экстракта в дозах 50 и 100 мг/кг и препарата сравнения силимара (ЗАО «Фармцентр ВИЛАР», Россия) в дозе 100 мг/кг изучали в условиях экспериментального тетрахлолорметанового и тетрациклинового гепатитов.

Экспериментальный гепатит у животных вызывали однократным введением подкожно 50% масляного раствора тетрахлолорметана («Реахим», Россия) в дозе 0,4 мл на 100 г массы животного через час после последнего введения исследуемых веществ. (Руководство, 2012). Проведено изучение влияния экстракта и силимара на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния печени в сыворотке крови крыс с использованием биохимических наборов фирмы «Диакон» (Россия) и анализатора для клинической химии «Сlima MC-15» (Италия). Для установления гепатопротективной эффективности ВЗТЭС изучена активность индикаторных ферментов цитолитического синдрома: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), экскреционного фермента маркера холестаза - щелочной фосфатазы (ЩФ), а также содержание общего билирубина в условиях СС₄ гепатита.

Крыс подвергли эвтаназии в CO₂ камере для выделения из печени микросомальной фракции с применением метода дифференциального центрифугирования, а также определяли показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P₄₅₀, р-гидроксилирования анилина, N-деметилирования диметиланилина (ДМА) и скорости реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы (ГТФ), отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени (Omura, 1964). Патоморфологическое исследование печени крыс проводили с применением гистологических методик (Коржевский, Гиляров, 2010).

Экспериментальный тетрациклиновый гепатит вызывали 5-дневным внутрижелудочным введением тетрациклина (Биосинтез, Россия) в дозе 500 мг/кг с 6 по 10 сутки эксперимента животным контрольной и опытных групп (Полянских, 2017). Затем через 48 ч взяты из хвостовой вены пробы периферической крови, получена сыворотка и проведён её биохимический анализ.

Статистические данные обрабатывали с помощью лицензионной программы «Statistica version 13» (ТВСО Software Inc, США). Для оценки значимости отличий между выборками с распределением, приближающимся к нормальному, использовался t - критерий Стьюдента. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Данные в тексте и таблицах представлены в виде M±m, где M – средняя арифметическая величина, m – ошибка средней арифметической (Ланг и др., 2011, Боровиков, 2014).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование острой токсичности володушки золотистой экстракта сухого

Изучена острая токсичность ВЗТЭС на нелинейных мышах-самцах с исходной массой 18,0-22,0 г при введении per os с помощью внутрижелудочного зонда в виде водных растворов в диапазоне доз от 200 мг/кг до 2000 мг/кг. При экспериментальном изучении не установлены показатели ЛД₅₀, так как введенные дозы исследуемого экстракта в желудок мышам не вызывали гибели животных. ВЗТЭС является практически нетоксичным веществом по действующей классификации.

Исследование противовоспалительной активности володушки золотистой экстракта сухого

Проведено изучение влияния на течение острой экссудативной фазы ВЗТЭС на модели формалинового отёка лап мышей. В эксперименте использовались белые нелинейные мыши самцы в количестве 40 особей массой 18,0-22,0 г. Животные были разделены на 4 группы: контрольные животные, животные, получавшие исследуемый экстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг соответственно, группа, получавшая препарат сравнения. Полученные данные свидетельствуют о небольшой антиэкссудативной активности экстракта в дозе 10 мг/кг и достоверно выраженной антиэкссудативной активности экстракта в дозе 100 мг/кг. Экстракт при пятидневном введении в дозе 100 мг/кг достоверно подавляет развитие экссудативной фазы воспаления, вызванной формалином на 36%, по сравнению с контрольной группой животных, немного уступая препарату сравнения.

Изучено влияние ВЗТЭС на процессы альтерации и регенерации в очаге воспаления с использованием модели острого асептического воспаления. Исследование проведено на 30 нелинейных белых крысах самцах с массой 180 - 200 г. Крысы были разделены на группы. 1 группа – контрольная, животным которой вводили воду очищенную, 2 и 3 группы – опытные, где животные получали изучаемый экстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг соответственно. Установлено, что при введении крысам ВЗТЭС дозе 10 мг/кг снижается степень деструкции ткани: на 7 сутки – на 8%, в последующие сроки – на 19 %, 23 %, 27 % по сравнению с данными контрольной группы. При введении изучаемого экстракта в дозе 100 мг/кг у животных снижается степень деструкции ткани – на 14 %, 25 %, 36 % и 44 % на 7, 14, 21 и 28 сутки опыта соответственно по сравнению с показателями крыс контрольной группы. Таким образом, ВЗТЭС оказывает достоверно выраженное антиальтеративное действие.

Изучено влияние ВЗТЭС на течение хронической пролиферативной фазы воспаления у мышей на модели «*cotton pellet*». В эксперименте использовались белые нелинейные мыши в количестве 40 особей массой 18,0-22,0 г. Животные были разделены на группы. 1 группа – контрольные животные, получавшие вводили воду очищенную, 2 и 3 группы опытные животные,

получавшие изучаемый экстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг соответственно. Исследование показало, что экстракт володушки при семидневном введении внутрь обладает противовоспалительным эффектом. Экстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг проявляет антипролиферативную активность, тормозит процесс образования фиброзно-грануляционной ткани на 13% и 31% по сравнению с контролем. Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что ВЗТЭС в дозе 100 мг/кг оказывает достоверно выраженное антипролиферативное действие.

Проведено изучение влияния ВЗТЭС на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro* для выяснения предполагаемых механизмов противовоспалительного действия изучаемого экстракта. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1- Влияние ВЗТЭС на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro*, (M±m)

Вариант опыта	Скорость реакции, нмоль/мин на мг белка	Соотношение скоростей реакции опыт/контроль, %
Контроль	3,2±0,04	-
ВЗТЭС, 7 нг/мл пробы	0,60±0,01*	18,0
ВЗТЭС, 30 нг/мл пробы	0,30±0,02*	10,0

Примечание: здесь и далее * – различия статистически значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Эксперимент показал, что экстракт оказывает ингибирующее влияние на активность ЦОГ арахидоновой кислоты, угнетая скорость циклооксигеназной реакции на 82-90% (в зависимости от концентрации экстракта в пробе).

При патологиях часто наблюдается активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также снижение активности системы эндогенной антиоксидантной защиты. Было проведено исследование антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности изучаемого экстракта.

При исследовании антиоксидантной активности было установлено, что ВЗТЭС в концентрации 300 мкг/мл сохраняет 90% β-каротина в системе ДМСО-Н₂O₂, что свидетельствует выраженной антиоксидантной активности экстракта. Антиоксидантная активность ВЗТЭС в указанной концентрации сравнима с таковой у эталонного антиоксиданта ионола в концентрации 120 мкг/мл. Таким образом, экстракт является ингибитором процессов свободнорадикального окисления биомолекул.

Исследование мембраностабилизирующего действия ВЗТЭС показало трехкратное уменьшение по сравнению с контролем степени перекисного гемолиза эритроцитов, что свидетельствует мембраностабилизирующих свойствах экстракта.

Исследование гастропротективной эффективности володушки золотистой экстракта сухого

Проведено изучение гастропротективной эффективности ВЗТЭС в условиях модели острой этаноловой язвы у крыс. Фармакологические свойства экстракта изучали при его внутрижелудочном введении в течение трех дней в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг. Животных делили на 4 экспериментальных группы, по 10 крыс в каждой. В качестве препарата сравнения использовали лекарственный препарат плантаглюцид в дозе 250 мг/кг. Плантаглюцид растворяли в воде очищенной и вводили крысам в течение трех дней. Контрольным животным вводили воду очищенную в эквивалентном объеме. Объекты исследования вводили крысам при помощи зонда в утренние часы, за 1 час до кормления. При введении экстракта в дозе 100 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращалась на 86%, ТЭ = 7,3. При введении плантаглюцида в дозе 250 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращалась на 63%. Таким образом, ВЗТЭС оказывает гастропротективный эффект в условиях острой этаноловой язвы.

Проведено изучение влияния ВЗТЭС на состояние слизистой оболочки желудка у крыс в условиях острых экспериментальных язв с использованием индометациновой модели. Исследование было выполнено на 40 нелинейных белых крысах самцах массой 180-220 г. Крысы были разделены на четыре группы по 10 особей. Фармакологические свойства экстракта изучали при его внутрижелудочном введении крысам. Экстракт растворяли в воде очищенной и вводили его в течение трех дней в дозах 10 мг/кг (1 опытная группа) и 100 мг/кг (2 опытная группа). В качестве препарата сравнения крысам вводили плантаглюцид в изоэффективной дозе 250 мг/кг. (3 опытная группа). Плантаглюцид растворяли в воде очищенной и вводили также в течение трех дней. Контрольные животные получали воду очищенную в эквивалентном объеме. Объекты исследования вводили крысам в утренние часы, за 1 час до кормления. Результаты изучения противоязвенной активности ВЗТЭС на индометациновой модели поражения слизистой желудка приведены в таблице 2.

При введении экстракта володушки золотистой в дозе 10 мг/кг на индометациновой модели поражения слизистой желудка проявляется гастропротективный эффект: уменьшение площади язв на 89%, ТЭ = 9,1. При введении животным экстракта в дозе 100 мг/кг установлено уменьшение площади язвенной поверхности желудка крыс на 96%. На фоне введения экстракта в дозе 100 мг/кг язвы обнаруживали лишь у 67% животных. При введении плантаглюцида площадь язв сокращается на 49%.

Таблица 2- Влияние ВЗТЭС на экспериментальные язвы желудка у крыс, вызванные введением индометацина, (M±m)

Группы животных, n=10	Крысы с язвами, %	Средняя площадь язвенной поверхности	Индекс Паулса, отклонение в %	ТЭ
Контрольная (индометацин + вода)	100	12,26 ± 2,57	12,3	-
1 опытная (ВЗТЭС 10 мг/кг + индометацин)	100	1,35 ± 0,27*	1,4 89%	9,1
2 опытная (ВЗТЭС 100 мг/кг + индометацин)	67	0,76 ± 0,30*	0,5 96%	24,5
3 опытная (плантаглюцид 250 мг/кг + индометацин)	100	6,11 ± 0,13*	6,1 49%	2,0

Таким образом, ВЗТЭС оказывает гастропротективный эффект в условиях экспериментальной индометациновой язвы.

Противоязвенную активность ВЗТЭС изучали в условиях модели субхронической бутадионовой язвы желудка у крыс. Исследование было выполнено на 96 нелинейных белых крысах самцах массой 180-220 г, которые были разделены на четыре группы по 24 особи. Фармакологические свойства экстракта изучали при его внутрижелудочном введении крысам в течение 10 дней.

Таблица 3 - Влияние ВЗТЭС на течение бутадионовой язвы желудка у крыс на 21-е сутки опыта, (M±m)

Группы животных, n=24	Кол-во крыс с язвами, %	Площадь язвенных дефектов (мм ²)	Индекс Паулса, отклонение в %	ТЭ
Контрольная (бутадион + H ₂ O)	100	51,8 ± 1,55	51,8 -	-
1 опытная (ВЗТЭС 10 мг/кг + бутадион)	80	20,7 ± 0,30*	16,56 60%	3,1
2 опытная (ВЗТЭС 100 мг/кг + бутадион)	50	14,1 ± 0,22*	7 70%	7,4
3 опытная (плантаглюцид 250 мг/кг + бутадион)	78	25,4 ± 0,46*	20 -51%	2,0

Введение экстракта ограничивает образование язвенных дефектов, эффект наиболее выражен на 14-е и 21-е сутки наблюдений. Плантаглюцид также уменьшает размеры язв, уступая по эффективности экстракту.

Как видно из данных таблицы 3, на 21-е сутки введения экстракта в дозе 10 мг/кг проявляется гастропротективный эффект: уменьшение площади язв на 60 %, ТЭ = 3,1. При введении ВЗТЭС в дозе 100 мг/кг, происходит уменьшение площади язвенной поверхности на 70%, ТЭ = 7,4. При введении плантаглюцида в дозе 250 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращается на 51%, ТЭ = 2,0.

Патоморфологические исследования желудка проводили на 7, 14, 21 сутки. При гистологическом исследовании в данном эксперименте было установлено, что в группах животных, получавших ВЗТЭС, на 21-е сутки исследования были отчетливо заметны процессы активной регенерации в зоне дефекта. В группе животных с введением плантаглюцида также было отмечено усиление репаративных процессов, но полного заживления язвенного дефекта с восстановлением слизистой отмечено у этих животных не было. Данные исследования свидетельствуют о противоязвенной активности ВЗТЭС, превосходящей эффект плантаглюцида.

Таким образом, ВЗТЭС проявляет достоверную противоязвенную активность в условиях этаноловой и индометациновой язв слизистой желудка. Экстракт также оказывает достоверное гастропротективное действие в условиях экспериментальной бутидионовой язвы желудка.

Исследование фармакотерапевтической эффективности володушки золотистой травы экстракта сухого при повреждениях печени

Гепатопротективные свойства ВЗТЭС определяли на 50 белых нелинейных крысах самцах с исходной массой 180-220 г в условиях экспериментального тетрахлорметанового гепатита. Влияние экстракта изучали при его трехдневном внутрижелудочном введении крысам. Подопытные животные были разделены на пять групп. 1 группа – интактные животные; 2 – контрольные животные, у которых моделировали CCl_4 гепатит; 3 и 4 группы получали перед введением CCl_4 экстракт в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг соответственно; 5 группа получала силимар в дозе 100 мг/кг.

После окончания экспериментов крыс подвергли эвтаназии в CO_2 камере. Изъяли печень для выделения из неё микросомальной фракции и определяли показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P450, р-гидроксилирования анилина, N-деметилирования ДМА и скорости реакции конъюгации с участием ГТФ, отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени. Результаты изучения детоксицирующих свойств экстракта володушки в сравнении с референтным препаратом силимаром в экспериментах на животных с воспроизведенным гепатитом CCl_4 приведены на рисунке 1. ВЗТЭС в дозе 100 мг/кг в значительной степени предотвращает токсическое действие тетрахлорметана на печень,

увеличивает содержание цитохрома P₄₅₀ на 26% по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$) и на 60 % по сравнению с контрольными крысами ($p < 0,05$).

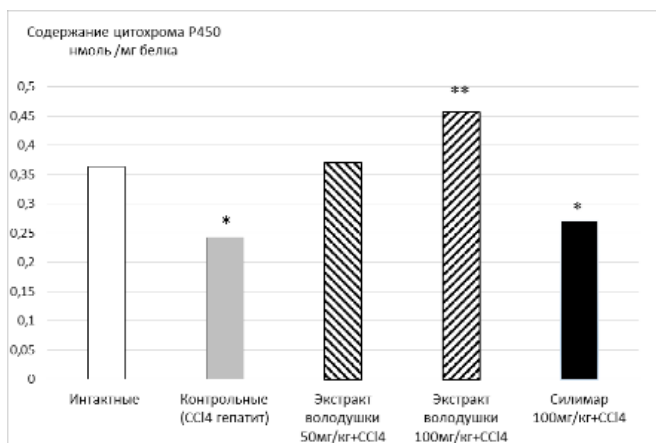


Рисунок 1 Влияние ВЗТЭС на содержание цитохрома P₄₅₀ в условиях модели CCl₄ гепатита у крыс

Примечание:

* – различия статистически значимы по сравнению с интактными крысами $p < 0,05$;

** – различия статистически значимы по сравнению с контролем (CCl₄ гепатит) $p < 0,05$.

Введение животным ВЗТЭС показало гепатопротективный и антиоксидантный эффект по отношению к действию CCl₄. Об этом свидетельствует высокая ферментативная активность центра гидроксирования цитохрома P₄₅₀ и индукция его количества в микросомах, вследствие чего достоверно активируется процесс деметилирования в 1,4 – 1,5 раза. Установлен активирующий эффект экстракта на ферменты микросомальной системы детоксикации печени крыс цитохрома P₄₅₀ и глутатионтрансферазу.

Из хвостовой вены взяты пробы периферической крови, получена сыворотка и изучено влияние экстракта на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния печени в сыворотке крови крыс. Результаты проведенных экспериментов представлены в таблице 4.

У животных контрольной группы при введении CCl₄ отмечено существенное увеличение активности ферментов, также наблюдалось ухудшение общего состояния, снижение массы и двигательной активности по сравнению с интактными крысами.

ВЗТЭС на фоне токсического гепатита в дозе 50 мг/кг снижал активность АЛТ на 32%, активность АСТ на 29%, щелочной фосфатазы – на 13%, содержание общего билирубина в сыворотке крови животных – на 18%. Экстракт в дозе 100 мг/кг активность АЛТ снижал на 64%, активность АСТ – на 35%,

щелочной фосфатазы – на 22%, содержание общего билирубина – на 21%. Изучение препарата сравнения силимара в дозе 100 мг/кг при остром повреждении печени, вызванном введением тетрахлорметана, показало, что силимар в дозе 100 мг/кг снижал активность АЛТ на 31%, АСТ – на 30%. Препарат сравнения снижал активность щелочной фосфатазы на 13%, а содержание общего билирубина в сыворотке крови животных – на 19%.

Таблица 4 - Влияние экстракта володушки и силимара на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния печени в сыворотке крови на модели тетрахлорметанового гепатита у крыс, (M±m)

Группы животных, n=10	АЛТ, Е/л	АСТ, Е/л	ЩФ, Е/л	Билирубин общ, мкмоль/л
Интактная (H ₂ O)	68,11±1,15	90,32±5,71	396,41±4,1	1,71±0,04
Контрольная (CCl ₄ + H ₂ O)	188,20±5,42	169,60±3,91	552,2±2,6	2,05±0,02
1 опытная (CCl ₄ + ВЗТЭС 50 мг/кг)	128,44±1,62*	120,10±2,41*	480,1±7,7*	1,68±0,02*
2 опытная (CCl ₄ + ВЗТЭС 100 мг/кг)	69,12±2,08*	110,42±1,94*	428,2±3,4*	1,62±0,04*
3 опытная (CCl ₄ + Силимар 100 мг/кг)	130,10±2,36*	119,44±1,50*	481,3±7,1*	1,67±0,01*

Проведено сравнительное патогистологическое исследование печени животных, получавших внутривенно ВЗТЭС и силимар на модели CCl₄ гепатита. Исследования показали, что у крыс интактной группы морфологическое строение образцов печени соответствует гистологической норме. У животных контрольной группы наблюдаются дистрофические изменения по типу гиалиново-капельной дистрофии (рисунок 2).

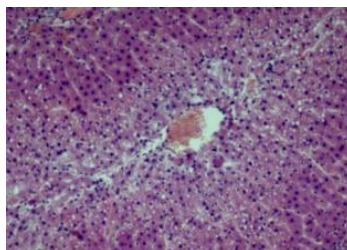


Рисунок 2. Морфофункциональное строение печени крыс контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

У животных, получавших экстракт в дозе 50 мг/кг (3 группа), во всех образцах видны дистрофические изменения гепатоцитов, но периваскулярно заметны островки здоровой ткани. Таким образом, оценивая структуру печени крыс 3 группы, можно заключить, что ВЗТЭС в дозе 50 мг/кг проявляет гепатопротективное действие.

У животных, получавших ВЗТЭС в дозе 100 мг/кг (рисунок 3), дистрофические изменения гепатоцитов заметны во всех образцах, но периваскулярно заметны островки здоровой ткани, они больше, чем в предыдущей группе.

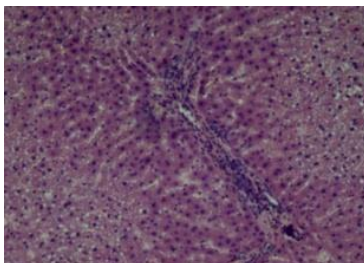


Рисунок 3. Морфофункциональное строение печени крыс, получавших экстракт володушки в дозе 100 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$

У крыс, получавших силимар в дозе 100 мг/кг, дистрофические изменения гепатоцитов выявлены во всех образцах, но периваскулярно заметны островки здоровой ткани. Оценивая морфологическую структуру органов крыс, получавших силимар, можно сделать следующее заключение, что силимар в дозе 100 мг/кг оказывает гепатопротективное действие. Таким образом, ВЗТЭС проявляет гепатопротективное действие сходное с действием силимара.

При изучении гепатопротективной активности ВЗТЭС на модели тетрациклинового гепатита были использованы нелинейные крысы самцы массой 180-220 г в количестве 50 особей. Крысы были разделены на пять групп по 10 особей: 1 – интактные животные; 2 – контрольные животные с тетрациклиновым гепатитом; 3 и 4 группы – опытные, которые получали исследуемый экстракт 3 дня в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг соответственно; 5 группа животных получала препарат сравнения силимар в дозе 100 мг/кг.

Введение подопытным животным тетрациклина вызвало выраженное увеличение активности ферментов, ухудшилось общее состояние крыс.

ВЗТЭС в дозе 50 мг/кг на фоне тетрациклинового гепатита снижал активность АЛТ на 28%, в дозе 100 мг/кг – на 59%, силимар в дозе 100 мг/кг – на 31%. Экстракт в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг снижал активность АСТ на 39% и на 50%, силимар в дозе 100 мг/кг – на 40%. Активность щелочной фосфатазы ВЗТЭС в дозе 50 мг/кг снижал на 25%, в дозе 100 мг/кг – на 33%, силимар в дозе

100 мг/кг – на 28%. Содержание общего билирубина в сыворотке крови крыс ВЗТЭС в дозе 50 мг/кг снижал на 15% по сравнению с контролем, в дозе 100 мг/кг – на 28%, силимар снижал содержание общего билирубина на 25%.

Таким образом, установлено, что экстракт в условиях моделирования тетрациклинового гепатита у крыс обладает гепатопротективными свойствами. Гепатопротективный эффект ВЗТЭС превосходит эффект силимара в аналогичной дозе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы во многих странах отмечается рост частоты гастроэнтерологических заболеваний, связанный с неблагоприятной экологической обстановкой, нерациональным питанием и др. (Калагина Ю.С., 2016). К числу наиболее распространенных заболеваний пищеварительной системы относятся язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, а также заболевания гепатобилиарной системы, в том числе гепатиты (Заболеваемость населения Российской Федерации, 2021). Учитывая уровень заболеваемости, инвалидизации при вышеупомянутых патологиях, разработка новых лекарственных средств растительного происхождения для профилактики и лечения заболеваний пищеварительной системы является актуальной задачей для фармацевтической науки.

Для максимального извлечения БАВ из лекарственного растительного сырья разрабатываются сухие экстракты, на основе которых создаются более удобные для применения, хранения и транспортировки лекарственные формы. Лекарственные средства, применяемые в виде сухих экстрактов, позволяют контролировать стабильность содержания БАВ, осуществлять стандартизацию и обеспечивать более высокую фармакотерапевтическую эффективность (Канунникова Ю.С., 2014). В представленной работе нами впервые определены фармакологические свойства и установлена фармакотерапевтическая эффективность володушки золотистой травы экстракта сухого при экспериментальных поражениях слизистой оболочки желудка и моделях повреждений печени.

Экспериментальными исследованиями доказано, что ВЗТЭС относится к группе «практически нетоксичные вещества» по действующей классификации и проявляет достоверно выраженную противовоспалительную активность: антиэкссудативное действие, снижая степень экссудации, индуцированной формалином, антипролиферативную активность (тормозит процесс образования фиброзно-грануляционной ткани на фоне хронического пролиферативного воспаления), а также оказывает антиальтеративное действие, ограничивая повреждение тканей флогогенным агентом и ускоряя процессы регенерации.

Установлено, что одним из возможных механизмов противовоспалительного действия ВЗТЭС является непосредственное ингибирующее воздействие на активность ЦОГ арахидоновой кислоты. Выявлено, что одним из молекулярно-клеточных механизмов действия ВЗТЭС

является его способность ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул. Установлена мембраностабилизирующая активность экстракта.

Наряду с этим, ВЗТЭС обладает гастропротективным действием на фоне острых повреждений желудка (этаноловая и индометациновая гастропатии), а также в условиях модели субхронической бутадионовой язвы желудка у крыс.

Экспериментально установлено, что ВЗТЭС в условиях модели тетрахлорметанового гепатита у крыс обладает детоксицирующими и гепатопротективными свойствами. При введении ВЗТЭС снижалась активность АЛТ и АСТ, билирубина, уменьшалась активность щелочной фосфатазы. Морфологические исследования свидетельствуют об ограничении развития дистрофических и некротических процессов, уменьшении количества апоптотически измененных гепатоцитов, снижении интенсивности лимфогистиоцитарной инфильтрации и восстановлении структуры органа.

Экстракт в условиях модели тетрациклинового гепатита также обладает гепатопротективными свойствами: снижает активность АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы и билирубина.

Выявленное противовоспалительное, гастропротективное, гепатопротективное действие ВЗТЭС обусловлено содержанием в нем фенольных соединений, в частности, кумаринов, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, обладающих антиоксидантной, противовоспалительной активностью. Известно, что фенольные соединения улучшают микроциркуляцию тканей, тем самым повышают метаболическую активность клеток покровно-эпителиального пласта, их способность противостоять различным факторам ulcerогенеза, а также ограничивать развитие воспалительной реакции и ускорять заживление эрозивно-язвенных повреждений в СОЖ. Так, например, кверцетин и рутин, содержащиеся в изучаемом экстракте, имеют доказанное антирадикальное и мембранотропное действие (Махмутов Б.Б., 2022; Larson A.J., 1988; Kleemann R., 2011) Феруловая и кофейная кислоты также обладают антиоксидантной активностью - торможением процессов перекисного окисления липидов в биомембранах, влиянием на активность мембраносвязанных ферментов, ингибированием свободнорадикальных стадий синтеза простагландинов и лейкотриенов, катализируемых циклооксигеназой и липооксигеназой, а также посредством блокирования специфических рецепторов медиаторов воспаления (Wu D.F., 1995). Лютеолин обладает противовоспалительной активностью, ингибируя циклооксигеназу-2, и снижает уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1б и ФНО-а) (Harris G.K., 2006).

Гастропротективный и гепатопротективный эффект ВЗТЭС, очевидно, во многом обусловлен его способностью ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, повышать активность ферментов антиоксидантной системы организма и стабилизировать клеточные

мембраны (Луценко С.В., 2016). Интерес представляют исследования (Kong J.-M., 2011), показавшие мембраностабилизирующую активность растительных фенольных соединений при повреждениях желудка и гепатобилиарной системы, что соответствует данным, полученным в проведенных экспериментах.

Таким образом, на моделях воспаления, повреждений желудка и печени у лабораторных животных установлено противовоспалительное, противоязвенное и гепатопротективное действие ВЗТЭС.

ВЫВОДЫ:

1. Володушки золотистой (*Vupleurum aureum* L.) травы экстракт сухой относится к практически нетоксичным веществам по действующей классификации.

2. Изучаемый экстракт проявляет выраженную противовоспалительную активность: антиэкссудативное действие, антипролиферативную активность, а также оказывает антиальтеративное действие.

3. Одним из возможных механизмов противовоспалительного действия экстракта является его непосредственное ингибирующее воздействие на активность циклооксигеназы арахидоновой кислоты.

4. Выявлена способность экстракта володушки ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, мембраностабилизирующая активность.

5. Экстракт оказывает гастропротективное влияние при экспериментальных повреждениях желудка.

6. Экстракт володушки в условиях моделей гепатита у крыс обладает гепатопротективными и детоксицирующими свойствами.

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

Работы, опубликованные в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Багинская, А.И. Экспериментальное моделирование в гастроэнтерологии. Практические рекомендации. Часть 1. Изучение секреторной функции желудка; оценка язвенных поражений / А.И. Багинская, Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова и др. // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2016. – Т. 19. – № 2, – С. 34-42.
2. Багинская, А.И. Экспериментальное моделирование в гастроэнтерологии. Практические рекомендации. Часть II. Экспериментальные модели "острых" язв желудка / А.И. Багинская, Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова и др. // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2016. – Т. 19. – № 3. – С. 32-40.
3. Багинская, А.И. Экспериментальное моделирование в гастроэнтерологии. Практические рекомендации. Часть III. Экспериментальные модели язв желудка, вызванных нестероидными противовоспалительными препаратами и некротирующими агентами / А.И. Багинская, Е.В.

Ферубко, Е.Н. Курманова и др. // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2016. – Т. 19. – № 4. – С. 33-42.

4. Багинская, А.И. Экспериментальное моделирование в гастроэнтерологии. Практические рекомендации. Часть IV. Экспериментальные модели субхронических и хронических язв желудка и двенадцатиперстной кишки / А.И. Багинская, Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова и др. // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2016. – Т. 19. – № 5. – С. 25-34.

5. Курманова, Е.Н. Гастропротективные и противовоспалительные свойства володушки золотистой травы экстракта сухого / Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, Р.К. Курманов, И.А. Мартыничик // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2017. – № 2 (19). – С. 222-225.

6. Лупанова, И.А. Исследование биологической активности сухого экстракта травы володушки золотистой (*Vupleurum Aureum* L.) с применением специфических ферментных биотест-систем в условиях *in vitro* / И.А. Лупанова, Л.Б. Стрелкова, Е.Н. Курманова, М.А. Джавахян // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2017. – Т. 20. – №5. – С. 3-7.

7. Курманова, Е.Н. Гепатопротективная активность володушки золотистой при экспериментальном моделировании патологии печени / Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, Л.Б. Стрелкова, В.П. Панин, Р.К. Курманов, М.И. Панина // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2018. – № 8 – С. 45-51.

8. Курманова, Е.Н. Володушка золотистая - новый объект для разработки растительных лекарственных препаратов / Е.Н. Курманова, Л.Б. Стрелкова, Е.В. Ферубко, В.П. Панин, И.А. Лупанова, Р.К. Курманов, И.А. Мартыничик, М.И. Панина, М.А. Джавахян, Т.Д. Даргаева, П.Г. Мизина, Н.И. Сидельников // **Экспериментальная и клиническая фармакология.** – 2018. – Т. 81. № 5. – С. 137.

9. Ферубко, Е.В. Изучение гепатопротекторной активности экстракта володушки золотистой на модели токсического гепатита / Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова, Л.Б. Стрелкова, Р.К. Курманов, И.А. Лупанова, М.А. Джавахян, Т.Д. Даргаева, П.Г. Мизина // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств.** – 2018. – № 2 (20). – С. 62-66.

10. Курманова, Е.Н. Противоязвенное действие экстракта володушки / Е.Н. Курманова, Т.Е. Трумпле, Е.В. Ферубко // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств.** – 2018. – №4 (22) – С. 4-8.

11. Стрелкова, Л.Б. Гепатозащитное действие экстракта володушки при экспериментальном тетрациклиновом гепатите / Л.Б. Стрелкова, Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, М.И. Панина // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия.** – 2019. – том 63 № 1, – С. 77-82.

Работы, опубликованные в изданиях, входящих в РИНЦ

12. Курманова, Е.Н. Изучение противовоспалительной активности володушки золотистой травы экстракта сухого / Е.Н. Курманова, Е.В. Ферубко, А.И. Громакова // Четвертая научно-практическая конференция с международным участием: «Молодые ученые и фармация XXI века». Сборник научных трудов. – М., ВИЛАР, 2016. – С. 387-390.

13. Курманова, Е.Н. Изучение противоязвенного действия володушки золотистой (*Vupleurum Aureum* L.) травы экстракта суммарного / Курманова Е.Н., Ферубко Е.В., Курманов Р.К., Сидельникова Г.Ф., Колхир В.К. // В книге: Человек и лекарство. Тезисы докладов XXIII Российского национального конгресса. Сер. "Библиотека Российского национального конгресса "Человек и лекарство". – 2016. – С. 189.

14. Курманова, Е.Н. Изучение специфической активности володушки золотистой травы экстракта суммарного / Е.Н. Курманова, М.А. Джавахян, А.И. Громакова, Е.В. Ферубко // Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине. Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ВИЛАР. – 2016. – С. 601-602.
15. Патент 2637644 Российская Федерация, МПК А61К 36/233; В01D 11/02; А61Р 1/04. Лекарственное средство, обладающее гастропротективной (противоязвенной активностью) / Ферубко Е.В., Курманова Е.Н. [и др.]; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Всерос. науч.-исследоват. ин-т лекарств. и ароматич. растений» – № 2016151233; заявл. 26.12.2016; опубл. 05.12.2017. – Бюл. № 34.
16. Багинская, А.И. Экспериментальные модели эрозивно-язвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки / А.И. Багинская, Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова и др. – М.: Русский врач, 2017. – 96 с.
17. Ферубко, Е.В. Изучение агрегационной активности экстракта володушки золотистой / Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова // В сборнике Молодые учёные и фармация XXI века. Сборник трудов шестой научной конференции с международным участием. – 2018. – С. 298-301.
18. Лупанова, И.А. Новые лекарственные средства растительного происхождения ВИЛАР / И.А. Лупанова, Л.В. Крепкова, Е.В. Ферубко, Т.Е. Трумпе, В.В. Бортникова, А.Н. Бабенко, Е.Н. Курманова, Т.В. Фатеева, П.Г. Мизина, Н.И. Сидельников. Москва, ФГБНУ ВИЛАР, 2021. – 159 с.
19. Курманова, Е.Н. Исследование фармакологических свойств володушки золотистой травы экстракта сухого / Е.Н. Курманова // Сборник трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 85 летию Ташкентского фармацевтического института «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» – 2022. – С. 275-276.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспаратаминотрансфераза; БАВ – биологически активные вещества; ВЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография; ВЗТЭС – володушки золотистой травы экстракт сухой; ГОСТ – Государственный Стандарт; ГФ XIV – Государственная Фармакопея 14-го издания; ДМА – диметиланилин; ИП – индекс Паулса; ЛП – лекарственный препарат; ЛРП – лекарственный растительный препарат; ПОЛ – перекисное окисление липидов; СОЖ – слизистая оболочка желудка; СОП – стандартная операционная процедура; ТСХ – тонкослойная хроматография; ТЭ – терапевтический эффект; ЦОГ – циклооксигеназа; ЩФ – щелочная фосфатаза