

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»

На правах рукописи

КУРМАНОВА ЕЛЕНА НИКОЛАЕВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЛОДУШКИ
ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО

3.3.6. –фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Ферубко Екатерина Владимировна

Санкт-Петербург – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Медицинские аспекты этиологии и патогенеза язвенной болезни и повреждений печени.....	11
1.2. Коррекция некоторых заболеваний органов пищеварения лекарственными средствами растительного происхождения	18
1.3. Володушка золотистая - перспективный источник разработки эффективных лекарственных препаратов при заболеваниях органов пищеварения.....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	
2.1. <i>Характеристика володушки золотистой травы экстракта сухого.....</i>	36
2.2. Экспериментальные животные	40
2.3. Краткая характеристика объектов исследования.....	41
2.4 Описание используемых методов.....	42
ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО	
3.1. Изучение острой токсичности володушки золотистой травы экстракта сухого.....	51
3.2. Исследование противовоспалительных свойств володушки золотистой травы экстракта сухого	53
3.2.1. Изучение антиэкссудативной активности володушки золотистой травы экстракта сухого на модели формалинового отека.....	54
3.2.2. Изучение влияния володушки золотистой травы экстракта сухого на процессы альтерации и регенерации в очаге воспаления с использованием модели острого асептического воспаления.....	57

3.2.3. Изучение пролиферативной активности володушки золотистой травы экстракта сухого на модели «ватной гранулемы».....	59
3.2.4. Изучение влияния володушки золотистой травы экстракта сухого на активность циклооксигеназы арахидоновой кислоты <i>in vitro</i>	64
3.2.5. Изучение антиоксидантных свойств и мембраностабилизирующей активности володушки золотистой травы экстракта сухого.....	65
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ЖЕЛУДКА	
4.1. Исследование гастропротективной активности володушки золотистой травы экстракта сухого при острой этаноловой язве у крыс.....	68
4.2. Исследование гастропротективной активности володушки золотистой травы экстракта сухого в условиях индометациновой язвы у крыс.....	72
4.3. Исследование гастропротективной активности володушки золотистой травы экстракта сухого при субхронической бутадионовой язве крыс	75
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ПЕЧЕНИ	
5.1 Изучение гепатопротективной активности володушки золотистой травы экстракта сухого при повреждении печени, вызванном введением четырёххлористого углерода.....	83
5.2. Изучение гепатопротективной активности володушки золотистой травы экстракта сухого на модели тетрациклинового гепатита.....	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	103
ВЫВОДЫ.....	107
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	108
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	130

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В структуре заболеваемости болезни органов пищеварения занимают 5-е место и являются причиной 4,5% случаев смерти [114]. 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 [134].

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

[71]. 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 [71].

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., Саратиков А.С., Нехода М.Ф., Мирецкая Т.И., 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 расширять 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.

Цель исследования - 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 было решить следующие задачи:

- 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.

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.) и применяются при изучении вопросов качественного и количественного анализа лекарственного растительного сырья, содержащего флавоноиды, и при разработке методов стандартизации растительного сырья и лекарственных препаратов растительного происхождения.

Материалы исследований использованы ООО «Травы Башкирии» в промышленном выпуске чайного напитка.

Основные 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 ГГТУ 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Медицинские аспекты этиологии и патогенеза язвенной болезни и повреждений печени

В последние годы во многих странах отмечается неуклонный рост частоты гастроэнтерологических заболеваний, связанный с неблагоприятной экологической обстановкой и нерациональным питанием [62]. К числу наиболее распространенных относятся хронический панкреатит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, заболевания гепатобилиарной системы, в том числе гепатиты [49].

Эти болезни осложняются развитием дисбактериоза, который выявляется более чем у 90 % больных с острыми и хроническими гастроэнтерологическими заболеваниями, а также практически у всех пациентов с острыми кишечными инфекциями. При этом выявляется нарушение баланса между различными видами микроорганизмов кишечника, рост патогенной и условно патогенной флоры, развиваются общие метаболические расстройства и нейрогуморальные нарушения [140].

Кроме того, отмечается увеличение числа больных с тяжелым течением заболеваний пищеварительной системы и развитием осложнений. В связи с этим проблема восстановления функциональной активности органов пищеварения, профилактика сезонных обострений является актуальной и достаточно сложной [82].

Заболеваниями данной группы страдает практически каждый десятый житель РФ. Самые распространенные из них - заболевания гепатобилиарной системы, например, гепатиты (18-22%). Широко распространена язвенная болезнь желудка. Анализ структуры заболеваемости органов пищеварительной системы показал, что на долю язвенной болезни приходится 23,5% заболеваний [114].

Язвенная болезнь по распространенности, тяжести течения, осложнениям и смертности занимает одно из ведущих мест среди заболеваний желудочно-кишечного тракта [11, 63, 148]. Это хроническое, циклически протекающее заболевание с разнообразной клинической картиной, с основным морфологическим проявлением - рецидивирующей язвой желудка или двенадцатиперстной кишки [11, 81, 148]. Часто данная болезнь приводит к развитию серьезных осложнений: внутреннее кровотечение, перфорация язвы, её проникновение в прилежащие органы, рак желудка и др. [22, 85, 143, 171]. Среди причин язвенной болезни выделяют наследственную предрасположенность, нейропсихические проявления, алиментарные факторы, вредные привычки, инфекции, а также неконтролируемый прием нестероидных противовоспалительных препаратов, [47, 85, 123, 142, 167].

Актуально определение В.Х. Василенко: «язвенная болезнь – понятие клинко-анатомическое; это хроническое рецидивирующее (полициклическое) заболевание, характеризующееся общей морфологической особенностью - потерей участка слизистой оболочки с образованием язвенного дефекта в тех отделах гастродуоденальной зоны, которые омываются активным желудочным соком» [5, 59, 77, 78, 145]. Выдвигались различные теории происхождения язвенной болезни: воспалительная, механическая, инфекционная, нейрогуморальная, нейродистрофическая. Но ни одна из них не стала основополагающей, что свидетельствует о многообразии причин, способствующих язвообразованию [40, 59, 63, 72, 147, 149]. Патогенез язвенной болезни сложный и многофакторный [22, 24, 39, 40, 58, 148, 149]. Основной причиной данного заболевания сегодня признается нарушение баланса между факторами защиты слизистой оболочки желудка (СОЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК) и агрессивными факторами желудочного сока [24, 40, 41, 86, 148, 149, 158, 200]. В эти процессы вовлечены центральная и вегетативная нервные системы, биогенные амины и пептидные гормоны пищеварительного тракта, наследственно-конституциональные факторы. Такое взаимодействие и

определяет соотношение защитных и агрессивных факторов в слизистой оболочке гастродуоденальной области [8, 131, 132, 142, 149, 158].

К защитным факторам оболочки желудка относят слизисто-бикарбонатный барьер, дуоденальный тормозной механизм, регионарный кровоток, восстановительную активность поверхностного эпителия [8, 77, 110, 131, 132, 149, 200]. Известно, что в краях эпителия пролиферация всегда усилена, он не полностью дифференцирован, в нем почти нет мукоида, что делает его легко уязвимым для соляной кислоты и пепсина [8, 158]. Препятствует заживлению недостаточное кровоснабжение [77, 145, 148]. В качестве факторов агрессии выступают ацидопептический фактор, увеличение массы обкладочных клеток, повышение тонуса *n. vagus*, избыточная продукция гастрина, желудочно-дуоденальная дискинезия, повреждение слизистой, вследствие инвазии хеликобактера (*Helicobacter pylori*), усиление перекисного окисления липидов [81, 86, 110].

Из факторов агрессии ведущее место отводится ацидопептическому фактору. Положение «без кислоты не бывает язвы» остается актуальным и в настоящее время [22, 33, 58, 85, 149, 158].

Важным фактором агрессии является активация процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул [88]. Поэтому существует необходимость включения в комплексную терапию язвенной болезни антиоксидантов. Из этой группы наибольшее внимание привлекают препараты растительного происхождения, содержащие естественные антиоксиданты [50, 51, 144, 152, 153, 156, 157, 161, 176, 178, 188, 189, 191, 193, 194, 195].

Помимо язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки определенное место занимают болезни гепатобилиарной системы. Причиной заболеваний печени являются интоксикации эндогенной и экзогенной природы (гепатотропные яды, алкоголь, пищевые отравления), инфекции, побочные действия лекарственных средств, нарушения питания и обмена веществ, иммунные нарушения и расстройства кровообращения [20, 28, 56, 58, 108, 109,

25, 136, 183]. В настоящее время выделены основные типы поражений печени: гепатиты, гепатозы, циррозы, опухоли, перенапряжение гепатобилиарной системы при стрессовых состояниях организма [35, 67, 68]. В механизме их развития установлена роль межорганных взаимодействий [26, 160, 182]. Особое внимание отводится расстройствам кровообращения, лимфообращения, микроциркуляции, ишемии и гипоксии [108], наследственным факторам [143], иммунным механизмам и аллергическим состояниям [105], а также снижению сопротивляемости организма к неблагоприятным факторам окружающей среды [42].

Хронический гепатит – воспаление печени, которое развивается и продолжается более шести месяцев. Данная патология имеет серьезное социально-экономическое значение. По статистическим данным, в мире около 328 млн. человек страдает хроническими формами гепатита. Ежегодно выявляется более 50 млн. человек с впервые выявленным гепатитом В и 100-200 млн. – с гепатитом С. Хронические гепатиты занимают около 70% в общей структуре болезней печени [61, 171, 184]. Хронический гепатит классифицируется по этиологии, степени активности патологии, данным биопсии и др. По этиологии выделяют вирусные гепатиты, аутоиммунный, лекарственный и криптогенный гепатит [36, 68, 157, 184]. Патогенез хронического гепатита связан с повреждением клеток печени, включением агрессивных аутоиммунных механизмов, способствующих хронизации процесса.

Причиной хронического гепатита являются вирусные гепатиты [36, 142, 157], интоксикация организма алкоголем, лекарственными препаратами (антибиотики, гормональные средства, противотуберкулезные препараты), тяжелых металлов и химических соединений. Накопленные в клетках печени токсины и их метаболиты вызывают сбой в функционировании печени, способствуют холестазу и вызывают нарушения обмена. Также многие метаболиты являются антигенами, на которые реагирует иммунная система

организма. Хронический гепатит развивается и в результате аутоиммунных процессов, связанных с неполноценностью Т-супрессоров и образованием токсичных для клеток Т-лимфоцитов [61, 184].

Принято считать, что основные механизмы повреждений органов гепатобилиарной системы определяются природой повреждающих агентов и особенностями сопутствующих условий [21, 35, 47, 108, 169, 192]. Цитолиз является наиболее частым признаком при острых течениях поражений печени. Первичные механизмы данного синдрома связаны с нарушением окислительного фосфорилирования, снижением энергопродукции с последующим изменением функции и структуры клеток [52, 101, 139, 183].

Большое значение в деструкции клеток печени и желчевыводящих путей имеют лизосомальные гидролазы [105, 108]. Цитолитический синдром проявляется изменениями активности ферментных систем, концентраций ряда веществ в сыворотке крови и тканях органов, а патоморфологически - дистрофией и некрозом тканей [26, 57, 160]. Важный синдром - холестаза часто наблюдается при повреждениях гепатобилиарной системы и обусловлен нарушением продукции и оттока желчи. В основе его развития лежат процессы подавления деятельности ферментных систем, изменения обмена желчных кислот и холестерина, а также механизмы снижения проницаемости биологических мембран [48, 179]. Наряду с указанными синдромами, при повреждении печени, выделяются также связанные с ними желтуха, мезенхимально-воспалительная реакция, портальная гипертензия, печеночная кома, гепатолиенальный, гепаторенальный синдромы и другие проявления болезни [24, 26, 36].

Цитолиз и холестаза развиваются практически при всех видах поражений органов гепатобилиарной системы [47, 121] и являются неспецифическими реакциями на действие повреждающих агентов и агрессивных факторов. Причиной их развития являются процессы изменения проницаемости и нарушения функциональной и структурной целостности биологических

мембран. А также, связанные с этими процессами расстройства координированной деятельности ферментных систем, обеспечивающие адекватное биологическое окисление [85, 113, 159].

Проведенные за последнее время исследования внесли весомый вклад в понимание молекулярных механизмов повреждения органов гепатобилиарной системы. Поражения печени, вызванные тетрахлорметаном и другими повреждающими агентами, сопровождаются изменениями каталитической активности мембраносвязанных монооксигеназ в эндоплазматическом ретикулуме, снижением энергетических процессов в митохондриях, уменьшением мембраносвязывающего потенциала [105, 180, 186]. Также они угнетают трансформацию ксенобиотиков и эндогенных метаболитов. Характеризуются разобщением окислительного фосфорилирования, нарушением распределения ионов, подавлением белкового синтеза [162, 186]. Вероятна связь указанных патологических нарушений со структурно-функциональной дезинтеграцией мембранных структур клеток, в основе которых лежат процессы ускорения ПОЛ [82]. Известно, что ускорение свободнорадикальных процессов в печени, возникающее под воздействием токсичных соединений, характеризует степень альтерации органа и длительность воздействия гепатотоксических агентов [53, 102, 168, 180, 186] и играет важную роль в прогрессировании патологического процесса, а также сопровождается значительными изменениями в тканях гепатобилиарной системы [53, 89, 139].

1.2. Коррекция некоторых заболеваний органов пищеварения лекарственными средствами растительного происхождения

Патология органов пищеварения может возникать остро, а также переходить в хроническое течение или демонстрировать сочетанный характер. В настоящее время в терапии болезней органов пищеварения широко используются разнообразные синтетические лекарственные средства (ЛС), которые при иногда выраженном терапевтическом эффекте все-таки не лишены побочного действия, имеют противопоказания и ограничения к применению, а также далеко не всегда способны предотвратить развитие рецидива заболевания после их отмены [125]. Это определяет необходимость разработки комплексных подходов к лечению этих заболеваний, в том числе с применением лекарственных растительных средств, которые имеют широкий спектр профилактического и лечебного действия, отличаются низкой токсичностью, физиологичностью действия, способностью быстро устранять симптомы обострения, предупреждать рецидивы и способствовать восстановлению функций желудочно-кишечного тракта. Несмотря на увеличивающийся сектор рынка растительных средств, номенклатура лекарственных препаратов растительного происхождения для лечения таких сложных патологий как язвенная болезнь, гепатиты ограничена [43].

Востребованность растительных препаратов для профилактики и лечения заболеваний пищеварительной системы несомненна. Например, при структурном анализе показателей ассортимента лекарственных растительных препаратов (ЛРП) в аптечных организациях Республики Саха (Якутия) (54 эксперта, июль 2020 г.) показано, что спрос на них занимает вторую позицию в рейтинге после препаратов для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы [135].

С учетом востребованности и доли ассортимента растительных лекарственных средств (ЛС), используемых в практическом здравоохранении

(около 25 % от общего числа ЛС, обращающихся на отечественном рынке [43]), расширение исследований по изысканию перспективных источников для получения новых эффективных и безопасных ЛРП, в том числе применяемых в гастроэнтерологической практике, является актуальной задачей медико-фармацевтического научного сообщества.

Одним из путей расширения номенклатуры ЛРП является всестороннее изучение действия уже известных фармакопейных лекарственных растений (ЛР), часто используемых по ограниченному числу показаний, а также всестороннее исследование их близкородственных видов. Перспективным направлением исследований может являться также составление рациональных многокомпонентных растительных композиций (сборов) на основе этих ЛР.

Несмотря на возрастание в ассортименте аптек доли современных ЛФ, в нашей стране сборы по-прежнему остаются весьма популярными, доступными для населения и при этом эффективными. Они выигрывают в стоимости, содержат комплекс биологически активных веществ (БАВ) с широким спектром фармакотерапевтического действия, а, следовательно, могут использоваться не только для лечения пораженного органа, но и для коррекции сопряженных систем организма. Водные извлечения из них имеют высокое сродство к человеческому организму [66].

В целях определения номенклатуры ЛРП, зарегистрированных на территории Российской Федерации, проведен анализ Государственного реестра лекарственных средств (ГР) [38], разрешенных для применения в медицинской практике. Показано, что в настоящее время зарегистрировано более 500 наименований ЛС растительного происхождения, которые отличаются по компонентному составу, способу получения, степени переработки ЛРС или очистки первичных извлечений и субстанций, а также ЛФ. Учитывая долю каждого в общем количестве ЛРП, можно условно выделить следующие группы ЛС растительного происхождения (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение ЛС растительного происхождения по группам в ГР

Группы ЛС растительного происхождения	Доля группы от общего количества официальных растительных ЛС в ГР, %
<i>ЛРС</i> - свежие или высушенные растения либо их части, используемые для производства ЛС организациями-производителями ЛС или изготовления ЛП аптечными организациями, ветеринарными аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность [3]	31,4
<i>Сборы</i> - смеси двух и более видов ЛРС различных способов переработки, возможно с добавлением субстанций минерального, синтетического, растительного и животного происхождения [21]	5,5
<p><i>ЛРП:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Монокомпонентные ЛРП</i> – препараты, полученные или приготовленные из одного вида ЛРС (настойки, экстракты, капли, таблетки, индивидуальные вещества и др. ЛФ) - <i>Многокомпонентные ЛРП</i> – препараты, содержащие в своем составе несколько однородных ингредиентов (комбинацию компонентов), некоторые из которых могут являться комплексными* или комбинированными** [22] (настойки, экстракты, эликсиры, таблетки, капсулы, драже, и др. ЛФ) 	<p>35,3</p> <p>27,8</p>
Итого по данным ГР [23]	100

* - комплексными называются ЛРП, содержащие комплекс биологически активных веществ, переходящих в него в процессе производства в более или менее нативном состоянии из исходного ЛРС. Например, все галеновые препараты являются комплексными, а многие из них – многокомпонентными [66].

** - комбинированными называются ЛРП в состав которых входят неоднородные ингредиенты, например, кристаллические субстанции (камфора, ментол и др.), эфирные масла (мятное, эвкалиптовое и др.), экстракты [66].

Изучение структуры ассортимента отечественных ЛРП по видам лечебного действия показывает, что они относятся более чем к 20 фармакотерапевтическим группам [38]. Из них выделяется 11 групп, которые применяются при заболеваниях органов пищеварения, причем ЛРП относительно равномерно распределяются в каждой группе.

Наибольшую долю среди препаратов, применяющихся в гастроэнтерологической практике, занимают желчегонные (22,3%), слабительные (19,5%), спазмолитические (17,4%) ЛРП. Вяжущие ЛРП, стимуляторы аппетита (горечи) и гепатопротекторы составляют соответственно 10%, 7,1% и 5,6%. Менее 5% приходится на долю противоязвенных, обволакивающих, ферментных, противогеморроидальных и ветрогонных ЛРП. Растительные ЛС комбинированного действия составляют 13,1%.

Широкий спектр растительных ЛС указанных групп представлен следующими препаратами российского и зарубежного производства [38].

1. Желчегонные растительные ЛС:

- *отечественного производства* - корни и листья барбариса (препарат - берберина бисульфат), цветки бессмертника песчаного (сухой экстракт, препарат - фламин), кукурузные рыльца и столбики (жидкий экстракт), листья вахты трехлистной, цветки пижмы (препарат - танацехол), плоды кориандра, корни одуванчика, трава чистотела, препараты: холосас (из плодов шиповника), аллохол (экстракты крапивы, чеснока), билигнин (лигнин, получаемый из древесины растений), конвафлавин (сумма флавоноидов из травы ландыша Кейске); флакумин (из листьев скумпии кожевенной), сибектан (экстракты листьев березы, травы зверобоя, силимар, танацехол);

- *зарубежного производства* – легалон, силимарин, карсил, силибор (из плодов расторопши пятнистой), артехолин (комплексный препарат, содержащий экстракты тысячелистника, мяты, чистотела, полыни, одуванчика, расторопши и др.), холагогум (комбинированный препарат, содержащий экстракт чистотела, куркумы, шпината, масла мяты перечной, куркумы, фосфолипидов);

2. Слабительные растительные ЛС:

- *отечественного производства* – кора крушины (препарат - рамнил), плоды жостера, листья сенны (экстракт сенны сухой, антрасеннин), корни ревеня (таблетки корня ревеня), масло касторовое, кафиол (измельченные плоды инжира, листья и плоды сенны, сливовая мякоть, масло вазелиновое), сложный лакричный порошок, препарат, получаемый из морской капусты - ламинарин;

- *зарубежного производства* – из листьев сенны (сенаде, сенадексин), агиолакс (сумма действующих веществ сенны, подорожника блошиного, ромашки); калифиг (экстракт сенны, инжира, масло гвоздичное, мяты перечной); мукофальк (гидрофильные волокна из наружной оболочки семян подорожника яйцевидного); депурафлюкс (кора крушины, плоды аниса, тмина, кориандра, фенхеля, листья мяты перечной, сенны, трава золототысячника, хвоща); регулакс (порошок листьев и плодов сенны, инжирная паста, сливовый мусс и вспомогательные вещества);

3. Спазмолитические растительные ЛС:

- *отечественного производства* - препараты на основе красавки обыкновенной (бесалол, белластезин, бекарбон, беллалгин, таблетки желудочные с экстрактом красавки), моно- и многокомпонентные настойки: валерианы, полыни, красавки, календулы; комбинированный препарат гастрогуттал (капли желудочные растительного происхождения, содержащие настойку валерианы, полыни, красавки, мяты); листья мяты перечной, мятные таблетки; плоды фенхеля, укропа, кориандра, тмина; цветки ромашки; датискан (суммарный препарат из листьев датиски коноплевой);

- *зарубежного производства* - плантекс (содержит экстракт из плодов фенхеля, эфирное масло фенхеля, вспомогательные вещества);

4. ЛРП, содержащие горечи и применяющиеся для улучшения пищеварения, деятельности пищеварительных желез и возбуждения аппетита:

- *отечественного производства* - корневища аира, трава золототысячника, корни одуванчика, листья вахты трехлистной, трава и настойка полыни горькой,

настойка горькая (трава золототысячника, листья трилистника водяного, корневища аира, трава полыни горькой, плоды кориандра);

- *зарубежного производства* - препарат ливолин (действующие вещества: лецитин соевый, альфа-токоферола ацетат (Витамин Е), тиамин мононитрат (Витамин В1), рибофлавин (Витамин В2), пиридоксин гидрохлорид (Витамин В6), никотинамид, цианокобаламин (Витамин В12));

5. Вяжущие растительные ЛС:

- *отечественного производства* – корневища змеевика, бадана, лапчатки, кровохлебки, плоды черемухи, черники, соплодия ольхи; препарат танальбин (продукт взаимодействия дубильных веществ из листьев скумпии кожевенной и сумаха дубильного), тансал (фенилсалицилат и танальбин);

- *зарубежного производства* – не выявлены;

6. Растительные гепатопротекторы:

- *отечественного производства* - тыквеол (из семян тыквы), вигератин, силимар, силибор, силимарин, силистронг (из расторопши пятнистой);

- *зарубежного производства* - ЛИВ-52 (препарат, содержащий порошок корней каперсов колючих, семян цикория обыкновенного, паслена черного, коры терминалии аржуна, семян кассии западной, травы тысячелистника обыкновенного, тамарикса гальского); гепатофальк планта (экстракт из плодов расторопши пятнистой, чистотела большого, турмелика яванского); карсил (экстракт из плодов расторопши пятнистой); гепа-мерц (L-орнитин-L-аспартат);

7. Гастропротекторы, противоязвенные и обволакивающие растительные ЛС:

- *отечественного производства* – корни алтея, солодки, корневища аира, корневища с корнями девясила, трава сушеницы, корневище с корнями синюхи, семена льна, подорожника блошиного, препараты: алантон (из корневищ с корнями девясила), викаир, викалин (из корневищ аира), калефлон (из цветков календулы); гастропит (комбинированный препарат, содержащий календулу, крушину, ромашку, тысячелистник, фенхелевое масло), гастропитин, бефунгин

(сумма фенольных соединений из березового гриба чаги), ликвиритон, флакарбин (из корней солодки голой), ротокан (из цветков ромашки обыкновенной);

- *зарубежного производства* - ромазулан (из цветков ромашки аптечной);

8. Растительные ЛС, влияющие на секрецию хлористоводородной кислоты:

- *отечественного производства* – препараты, повышающие секрецию, из листьев подорожника большого (сок подорожника, настойка подорожника, плантаглюцид);

- *зарубежного производства* – препарат, понижающий секрецию, алцид содержащий экстракт солодки, ромашки, коры крушины, плодов кориандра, фенхеля;

9. Противогеморроидальные растительные ЛС:

- *отечественного производства* – трава горца почечуйного, корни стальника (настойка); свечи анузол (красавки экстракт густой, трибромфенолята висмута и висмута оксида комплекс (ксероформ), цинка сульфата гептагидрат); бетиол (действующие вещества: красавки экстракт густой, ихтаммол);

- *зарубежного производства* – свечи гинкор прокто (экстракт стандартизированного гинкго билоба, бутоформ);

10. Растительные ферментные препараты: нигедаза (из семян чернушки дамасской);

11. Растительные ЛС средства комбинированного действия: эликсиры Демидовский, виватон, бальзамы Московия, панта-Форте, Первопрестольный, бальзам Биттнера, Маурера.

Проведенный нами анализ номенклатуры ЛРП в части наименований исходного ЛРС, позволил установить, что наиболее часто включаемыми в рецептуры ЛР, применяемыми в гастроэнтерологической практике, являются: ромашка, сенна, крушина, мята, аир, девясил, фенхель, кориандр, бессмертник, красавка, полынь, зверобой, расторопша. Ранее было показано, что некоторые из

этих растений доминируют не только в рецептурах для лечения болезней органов пищеварения, но и в целом среди официальных ЛРП [6, 7, 135].

Современная структура ассортимента ЛРП с учетом их ЛФ представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Современная структура ассортимента ЛРП по видам ЛФ

№ п/п	Тип ЛФ	ЛРП	
		Количество (абс.)	Доля в структуре ассортимента, %
1	ЛРС измельченное в различных типах упаковки	1240	51,0
2	Твердые	477	19,6
3	Жидкие	626	25,8
4	Мягкие	86	3,5
5	Спреи	3	0,1
Всего		2432	100,0

Из данных таблицы видно, что более половины ЛФ представлено измельченным ЛРС в различных типах упаковки. Жидкие ЛФ составляют более 25 % ассортимента, твердые - около 20 %.

На сегодняшний день в ГРЛС зарегистрировано более 40 сборов [38], однако в терапии заболеваний пищеварительной системы используется только 11 из них (табл. 3).

Таблица 3 – Официальные сборы, рекомендуемые при заболеваниях органов пищеварения

№ п/п	Наименование	Состав	Фармакологическое действие	Показания к применению
1	Желудочно-кишечный № 1	Цветков ромашки, листьев мяты перечной, плодов укропа огородного, корневищ айра, корней солодки - по 20 %	Противовоспалительное, желчегонное, антимикробное, спазмолитическое, ветрогонное; ускоряет регенерацию тканей	Гастриты с повышенной кислотностью, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, хронические колиты, дискинезии желчевыводящих путей, спазмы гладкой мускулатуры ЖКТ, метеоризм
2	Желудочный № 3	Коры крушины, листьев крапивы по 30 %, листьев мяты перечной – 20 %, корневищ айра и корневищ с корнями валерианы - по 10%	Слабительное, спазмолитическое	Спазмы гладкой мускулатуры ЖКТ, запоры (спастические)
3	Желчегонный № 1	Цветков бессмертника песчаного – 4 ч, листьев трилистника водяного – 3 ч, листьев мяты перечной – 2 ч, плодов кориандра – 2 ч	Желчегонное	Холециститы, гепатиты, холангиты, гепатохолециститы
4	Желчегонный № 2	Цветков бессмертника песчаного – 4 ч, травы тысячелистника, листьев мяты перечной, плодов кориандра - по 2 ч	Желчегонное	Холециститы, гепатиты, холангиты, гепато-холециститы
5	Желчегонный № 3	Цветков ромашки, листьев мяты перечной, цветков ноготков, травы тысячелистника – по 23 %, цветков пижмы – 8 %	Желчегонное, противовоспалительное, спазмолитическое; повышает аппетит, нормализует моторику ЖКТ	Заболевания печени и желчных путей (острые и хронические холециститы и гепатиты, холангиты, дискинезия желчевыводящих путей, постхолецистэктомический синдром)
6	Ветрогонный	Листьев мяты перечной, плодов фенхеля - по 34 %, корневищ с корнями валерианы – 32%	Ветрогонное, спазмолитическое	Метеоризм
7	Слабительный № 1	Коры крушины – 3 ч, листьев крапивы – 2 ч, травы тысячелистника – 1 ч	Слабительное	Хронические запоры

8	Слабительный № 2	Листьев сенны - 3ч, коры крушины, плодов жостера - по 2 ч, плодов аниса, корней солодки - по 1 ч	Слабительное	Хронические запоры
9	Противогеморроидальный	Листьев сенны, травы тысячелистника, коры крушины, плодов кориандра, корней солодки - по 20 %	Слабительное, спазмолитическое, противовоспалительное, гемостатическое	Геморрой, запоры
10	Сбор для возбуждения аппетита	Травы полыни горькой – 8 ч, травы тысячелистника – 2 ч	Возбуждает аппетит (горечь), улучшает пищеварение	Для возбуждения аппетита
11	Гепафит	Цветков ноготков, кукурузных рылец и столбиков – по 20 %, травы горца птичьего, травы зверобоя, листьев подорожника большого, плодов шиповника - по 13,33 %, корней одуванчика – 6,67 %	Желчегонное, гепатопротекторное и противовоспалительное	Холецистит, холангит, гепатит, дискинезия желчевыводящих путей (лечение и профилактика)

При анализе номенклатуры ЛСРП можно заключить, что ассортимент этих средств недостаточен для обеспечения населения препаратами для профилактики и лечения заболеваний органов пищеварения.

1.3. Володушка золотистая - перспективный источник разработки эффективных лекарственных препаратов при заболеваниях органов пищеварения

В последние годы повысился интерес к изучению лекарственных растений рода Володушка (*Bupleurum*) семейства Сельдерейные (*Apiaceae*). Род *Bupleurum* включает около 185–195 видов, 26 из которых произрастают на территории России [12].

В китайской и японской медицине растения этого рода используют уже в течение двух тысяч лет для лечения широкого спектра заболеваний. В этих странах активно используются корни растений *Bupleurum*. В Китае, например, в качестве производящего сырья володушки используются корни *Bupleurum chinense* DC и *Bupleurum scorzoneri folium* Willd (Pharmacopoeia of People's Republic of China). Биологическую ценность и фармакологическую активность там в основном связывают с компонентами корней - сайкосапонинами, полисахаридами, флавоноидами, эфирными маслами и жирными кислотами, обладающими выраженной противовоспалительной, иммунорегуляционной, антибактериальной, противовирусной активностью. Володушка в этих странах применяется в качестве противовирусного средства при гриппе и гепатите, что объясняется способностью ее тритерпеновых гликозидов, так называемых сайкосапонинов (буплеуроидов) активизировать синтез γ -интерферона. Причем, противовирусная активность сайкосапонинов настолько высока, что их рассматривают как перспективное средство для лечения заболеваний, вызванных вирусом иммунодефицита [201].

Первые данные по изучению растений рода Володушка в нашей стране были получены В.Г. Вограликом в 1941 г. [29]. На основании полученных экспериментальных данных был доказан желчегонный эффект растений рода Володушка, а в ходе дальнейших исследований были не только подтверждены

данные о желчегонном действии Володушки козелецелистной, но и обнаружено, что она несколько уступает по активности другим видам – Володушке золотистой и Володушке многожилчатой.

Официальным растением в России является *Vupleurum multinerve* L. (ВФС 42-580-76). На основе данного растения производят препарат Буплерин, обладающий противовоспалительной, Р-витаминной, желчегонной активностью, рекомендованный как профилактическое средство при капилляротоксикозах, глазных кровоизлияниях, отеках сосудистого происхождения, нефритах, ожогах (Временная фармакопейная статья 42-580-76 Травы Володушки многожилчатой. *Herba Vupleuri multinerve*). Володушка многожилчатая также входит в состав биологически активных добавок к пище: Гепатохолан, Гепастронг, Гепатон-2, Гепарон, Гербамарин (печеночный), Овесол, Гепатотранзит, Фитогепаксан. Самарскими учеными (П.Е. Кривенчук и др., 1975) был предложен препарат с желчегонным эффектом Пеквокрин, сырьем для которого служила Володушка круглолистная [70].

Российские ученые связывают фармакологическую активность растений рода Володушка преимущественно с действием флавоноидов надземной части и предлагают использовать как сырье для получения препаратов, обладающих гепатопротекторной и желчегонной активностью [76]. Ученые, изучавшие химический состав и терапевтическую эффективность видов Володушки, обнаружили в траве и подземных органах сапонины, эфирные масла, алкалоиды, дубильные вещества, спирт рибит, аскорбиновую кислоту, каротин. Кроме того, в растениях рода володушка найдены флавонолы (кверцетин, изорамнетин, рутин, изокверцетин, нарциссин) [44, 45, 46, 92, 94, 133].

Фармакологами и клиницистами доказано желчегонное, противовоспалительное, секреторное, капилляроукрепляющее действие комплекса биологически активных веществ растений рода *Vupleurum* [12, 13, 29, 60, 70, 76, 80, 100, 106, 107]. Активные соединения травы растений рода Володушка воздействуют на химический состав желчи, при этом возрастает

содержание 19 пигментов, билирубина, желчных кислот, холестеринхолатного коэффициента у лабораторных животных [106].

По данным Минаевой, желчегонный эффект володушки многожилчатой сходен с действием Бессмертника песчаного и является эффективным при холециститах, ангиохолиазах, гепатитах, циррозе печени [95].

Согласно современным представлениям, фармакологический эффект Володушек связывают с активным антиоксидантным действием комплекса БАВ, направленным на нивелирование последствий окислительного стресса. Достаточно высоко содержание в траве Володушек дубильных веществ катехиновой группы и полисахаридов, обеспечивающих противовоспалительный эффект [64, 96].

Анализ литературных данных дает возможность рассматривать род *Bupleurum* как ценное сырье для разработки препаратов при заболеваниях органов пищеварения.

Проведенный сравнительный анализ растений рода Володушка (*Bupleurum*), произрастающих на территории России, с целью поиска наиболее перспективного вида для разработки фитопрепарата при заболеваниях органов пищеварения, показал, что целесообразно рассмотреть володушку золотистую (длиннолистную) – (*Bupleurum aureum* (Fisch.) *seu longifolium* L.).

Володушка золотистая (длиннолистная) - *Bupleurum aureum* Fisch. *seu longifolium* L., сем. *Apiaceae* - Сельдерейные – многолетнее травянистое растение. Стебель до 1,5 м высотой, гладкий, прямой, простой, вверху слабоветвистый. Прикорневые и нижние стеблевые листья продолговатообратнояйцевидные; средние – сидячие, яйцевидные; верхние – мелкие, более широкие. Соцветие – сложный зонтик, имеющий диаметр до 10 см. Лучи зонтика немногочисленные, тонкие, 5-7 см дл. Обертка состоит из 3-5 крупных широкояйцевидных, неравных листочков, сходных с верхними листьями, которые при цветении становятся желтыми. Цветки собраны по 15-20 штук в зонтике, с золотистым оттенком, располагаются на цветоножках длиной в

2-5 см. Плоды – двусемянки, 3-5 мм длиной, гладкие, продолговато-эллиптические, темно коричневые, распадающиеся на 2 полуплодика с 5 резко выдающимися светлыми ребрами. Цветет в июне-июле, плодоносит в июле-сентябре [1]. Володушка золотистая широко распространена в европейской части России и Сибири, также встречается в Средней Азии, Казахстане, на севере Киргизии, Монголии, на территории Китая. Володушка золотистая - вид, приуроченный к местам с достаточным увлажнением, характерное растение высокотравья в травостое, в мелколесье. Произрастает в основном на различных вариантах серых лесных почв. Растение растёт на опушках, лесных лугах, по оврагам, в негустых хвойных, смешанных и лиственных лесах и по берегам рек [3, 91, 96, 103, 120].

Для заготовки володушки золотистой наиболее перспективны лесостепные районы Горно - Алтайской автономной области. Продуктивность в природных условиях достигает 1000 кг/га. В качестве сырья используют траву володушки. Заготовку ведут в период максимального накопления действующих веществ (флавоноидов) – в период цветения, срезая надземную часть, стараясь при этом не испортить корневую систему. Часть растений оставляют нетронутыми для размножения. Сушат траву в специальных сушилках при температуре 80 – 90° С, быстро, так как в ней присутствуют активные ферменты, разрушающие действующие вещества. Хранят сырье в плотных ящиках или бумажных мешках в сухом, темном, проветриваемом помещении [64].



Рис. 1. Володушка золотистая - *Viplex aureum* Fisch.

Володушка золотистая широко распространена в Европейской части России и в Сибири. На сегодняшний день имеются достаточные запасы сырья в дикой природе. Заготовка не является трудоемкой и дорогостоящей, т. к. растение произрастает преимущественно в равнинных регионах (в отличие от многожилчатой).

Проводились работы по разработке методов культивирования володушки золотистой на территории республики Башкортостан, которые показали, что володушка золотистая более технологично вводится в культуру, чем многожилчатая [97, 98]. Также имеются работы по изучению химического состава и фармакологической активности [12, 29, 45, 64, 76, 80, 106, 133].

Володушка золотистая издавна применялась в народной медицине на территории России. Первые работы по фармакологическому изучению этого вида проведены в 40-х годах XX века томскими клиницистами. Желчегонная активность данного растения впервые была показана Вограликом В.Е. [29], а густого экстракта Саратиковым А.С. [128], которым также было изучено действие экстракта володушки золотистой на углеводно-фосфорный обмен в печени (1959). Затем желчегонная и антиокислительная активность извлечений и густого экстракта была подтверждена в работах Нехода М.Ф. на лабораторных животных – собаках, мышах, кроликах [106]. Влияние володушки золотистой на эвакуаторную и секреторную функцию желудка показана в работах Мирецкой Т.И. [100].

Химико-фармакологические исследования и работы по выделению флавоноидов проводили Лапик А.С. [76], Дьяконовой Л.Н. [44, 45, 46]. Позже была изучена также Р-витаминная активность володушки золотистой и доказано капилляропротективное действие [80]. Влияние извлечений володушки золотистой на процессы свободнорадикального окисления в организме экспериментальных животных было показано Мустафиной М.К. [104.].

Также проводились работы по изучению химического состава володушки золотистой [30, 31, 54, 55, 93, 94].

Позже были проведены работы по изучению гепатопротекторных, антиоксидантных свойств, а также по внедрению володушки золотистой в культуру [12, 13, 23, 37, 46, 60, 70, 80, 100, 107, 126, 127, 128,].

По данным А.М. Мингажаевой, [96, 98] володушка золотистая более технологично вводится в культуру, чем многожилчатая, и имеет в четыре раза большую надземную массу, что важно при создании промышленных запасов растения. Семена володушки золотистой лучше, чем семена володушки многожилчатой всходят при озимом посеве, что имеет важное значение при создании промышленных плантаций. Володушку золотистую заготавливать проще, так как многожилчатая произрастает в труднодоступных для заготовки

горных районах. Таким образом, накоплена достаточно большая теоретическая и исследовательская база в научных центрах Сибири и Урала, показывающая желчегонный, гепатопротективный, капилляроукрепляющий, антиоксидантный эффекты данного растения, что дает возможность введения володушки золотистой в традиционную медицину в качестве эффективных лекарственных препаратов при заболеваниях органов пищеварения.

Таким образом, на основании литературных данных можно сделать вывод о том, что заболевания органов пищеварения являются распространенными патологиями среди населения. Несмотря на достижения в области лечения данных заболеваний, наблюдается постоянный рост их числа. Фармакотерапия проводится ограниченным спектром препаратов. В связи с этим поиск новых видов ЛРС с целью создания препарата для терапии заболеваний органов пищеварения является актуальным и своевременным.

Анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что перспективным источником для разработки ЛС гепатопротекторного действия являются представители рода Володушка (*Bupleurum*), которые входят в Фармакопеи Китая, Индии, Кореи, Японии и активно используются в медицине.

На территории РФ произрастает володушка золотистая (*Bupleurum aureum*), с древнейших времен активно используемая в народной медицине. Изучение фармакологической активности данного растения было начато около 70 лет тому назад и ведется по настоящее время. Володушка золотистая имеет доказанную желчегонную, гепатозащитную, Р-витаминную активность. В дикой природе достаточные запасы сырья этого растения, имеется возможность введения его в культуру. Комплекс биологически активных веществ с изученной фармакологической активностью, входящих в состав наземных органов *Bupleurum aureum*, позволит наряду с использованием ресурсосберегающей программы расширять номенклатуру фитопрепаратов на отечественном рынке.

В качестве активной субстанции целесообразно рассмотреть сухой экстракт травы володушки золотистой, т.к. сухие экстракты являются наиболее

рациональной формой переработки лекарственного растительного сырья, обеспечивающей максимальное извлечение суммы биологически активных веществ и возможность получения, стандартизованного фитопрепарата. К преимуществам сухих экстрактов относятся транспортабельность, стабильность при хранении, возможность точного дозирования и создания на их базе различных видов лекарственных форм. Перспективным направлением в разработке сухих экстрактов является совершенствование и создание новых прогрессивных ресурсосберегающих технологий переработки лекарственного растительного сырья, обеспечивающих максимальный выход биологически активных веществ.

Таким образом, по результатам ботанико-ресурсных, фармакологических, фитохимических исследований, учитывая возможность введения растений рода Володушка, произрастающих на территории РФ в культуру, целесообразно остановиться на разработке активной субстанции на основе травы володушки золотистой. Это актуально по ряду причин: на сегодняшний день накоплена большая доказательная база по биохимическому изучению данного растения, научно доказана фармакологическая активность как желчегонного и гепатопротекторного средства, большая наземная масса растения, хорошие запасы в дикой природе, простота заготовки, возможность культивирования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Характеристика володушки золотистой травы экстракта сухого

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

Экстракт сухой – извлечение из лекарственного растительного сырья, представляющее собой сыпучую массу с содержанием влаги не выше 5%.

Для производства опытных партий экстрактов сухих использовали траву володушки золотистой, собранную на территории Алтайского края (ТУ 9185-083-14721358-09) ООО «Компанией Хорст».

В ходе исследования подобраны оптимальные условия экстракции: экстрагент спирт этиловый 50%, температура $60 \pm 2^\circ \text{C}$, соотношение сырьё - экстрагент 1:10 с учетом коэффициента водопоглощения, трехкратная экстракция по 45 минут, степень измельченности сырья 1 мм.

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 %. Методика валидирована по основным аналитическим критериям.

Насыпная масса сухого экстракта володушки золотистой при свободном падении составляет $0,631 \text{ г/см}^3$, при уплотнении - $0,912 \text{ г/см}$; сыпучесть - $1,95 \text{ г/сек}$; угол естественного откоса - 36° ; влажность - 3,5%.

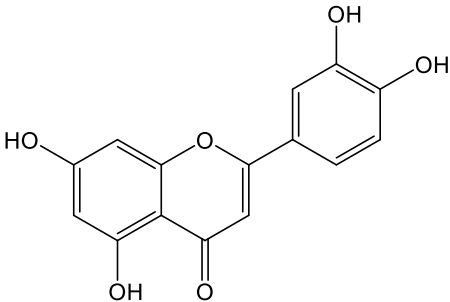
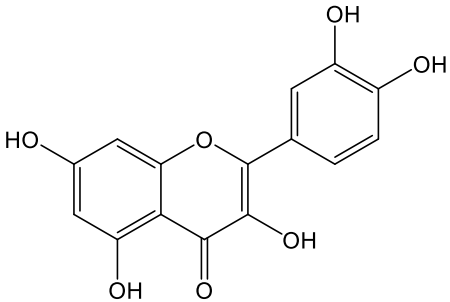
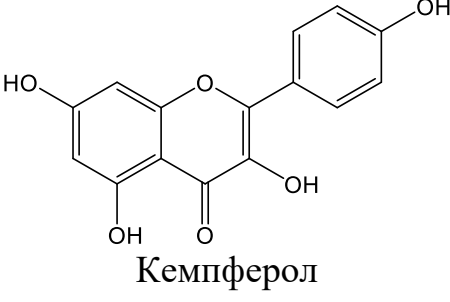

ВЗТЭС представляет собой аморфный гигроскопичный порошок желто-коричневого цвета со специфическим запахом, горького вкуса, срок годности 2 года. Образцы, заложенные в упаковке, предусмотренной в проекте НД, хранились 2 года 6 месяцев.

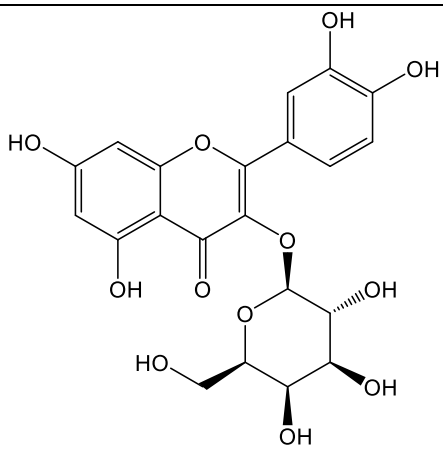
Качественный состав БАВ экстракта сухого исследован с использованием общеизвестных реакций по методикам, изложенным в ГФ XIV, а также методами ТСХ и ВЭЖХ. ВЭЖХ-анализ проводили на хроматографе Agilent 1100 Series HPLC. Agilent Technologies, 1999.

Качественными реакциями, а также хроматографией в тонком слое сорбента подтверждено присутствие в исследуемом объекте флавоноидов, дубильных веществ и сапонинов. При этом установлено присутствие лютеолина, кверцетина, кемпферола, изорамнетина, рутина, гиперозида, астрагалина. Определено присутствие фенолкарбоновых кислот (феруловая, кофейная, 4-кофеилхинная, розмариновая).

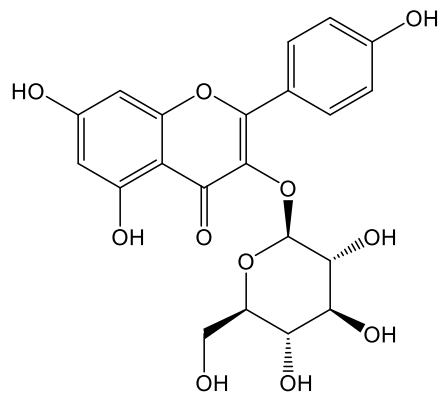
Структурные формулы веществ приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Структурные формулы веществ

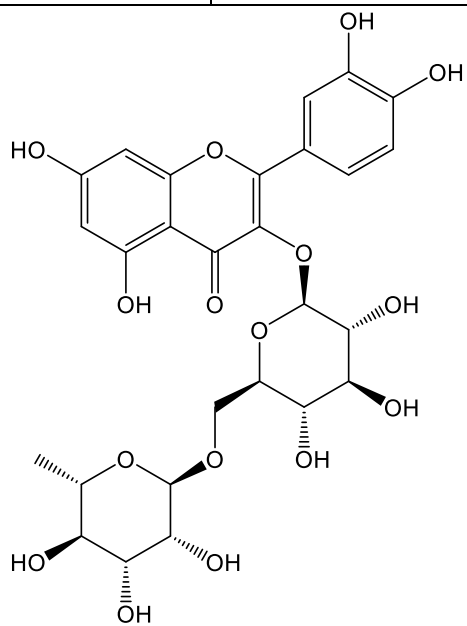
Флавоноиды	
 <p>Лютеолин</p>	 <p>кверцетин</p>
 <p>Кемпферол</p>	 <p>изорамнетин</p>



Гиперозид

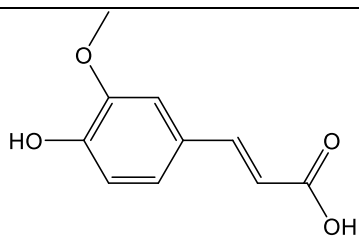


астрагалин

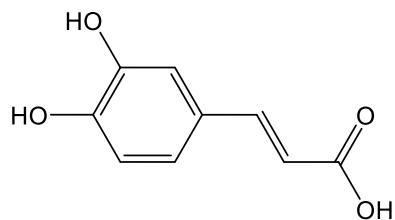


Рутин

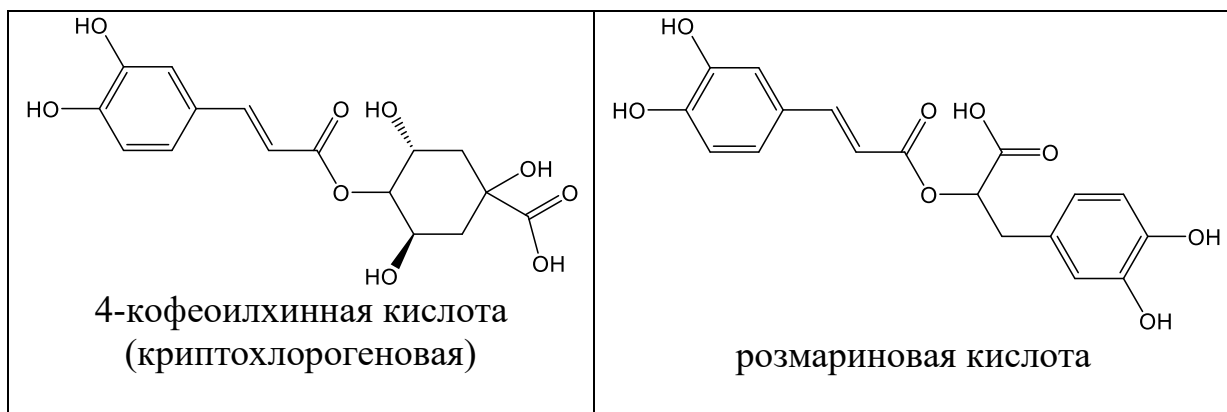
Фенолкарбоновые кислоты



феруловая кислота



кофейная кислота



Содержание дубильных веществ в володушки золотистой экстракте сухом в пересчете на (+) - катехин составляет $7,2 \% \pm 0,5$. Содержание сапонинов в пересчете на олеаноловую кислоту составляет $8,4 \% \pm 0,3$. Сумма полисахаридов в володушки золотистой экстракте сухом в пересчете на глюкозу составляет $1,80 \% \pm 0,15$.

Изучен аминокислотный состав экстракта сухого володушки золотистой, 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 володушки золотистой экстракте сухом 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 %) [64].

2.2. Лабораторные животные

Экспериментальная работа выполнена на 306 белых нелинейных крысах самцах массой 180,0-200,0 г и на 140 белых нелинейных мышах самцах массой 18,0-22,0 г.

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.) и в соответствии с Федеральными законами от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» и от 22.12.2014 г. № 429-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «Об обращении лекарственных средств».

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 (ETS 123), Strasbourg, 1986).

Исследования выполняли по согласованному письменному плану и в соответствии со Стандартными операционными процедурами исследователя (СОП); в соответствии с санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Производитель животных – Филиал «Андреевка» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (Московская область). Мышей и крыс содержали в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе. Эксперименты проводились с октября по май, животные перед экспериментальными исследованиями находились на карантине 14 дней.

Животные находились в стандартных условиях содержания (температура воздуха в виварии 20-22° С, влажность – не более 50%, воздухообмен

(вытяжка/приток) 8:10, световой режим (день/ночь) 1:1) в сертифицированном виварии при свободном доступе к пище и воде. Крысы и мыши содержались не более чем по 10 особей в пластиковых клетках на подстилке из обработанной мелкой древесной стружки.

Конкретные процедуры с использованием животных до их начала были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

2.3. Дозы экстракта и препараты сравнения

Объект исследования - володушки золотистой травы экстракт сухой (*Bupleurum aureum* (Fisch.) *seu longifolium* L.). Экстракт исследовали в экспериментально-терапевтических дозах: 10, 50 и 100 мг/кг.

В качестве препаратов сравнения использовали следующие лекарственные средства:

- индометацин («Софарма», Болгария) в дозе 5 мг/кг;
- плантаглюцид (ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия) в дозе 250 мг/кг;
- силимар (ЗАО «Фармцентр ВИЛАР», Россия) в дозе 100 мг/кг.

Объекты исследования вводили лабораторным животным при помощи зонда в утренние часы, за 1 час до кормления.

2.4 Описание используемых методов

Методика, используемая для определения острой токсичности

Определение острой токсичности володушки золотистой травы экстракта сухого по методу Кербера [124] осуществляли на нелинейных мышах самцах с массой тела 18,0-22,0 г при однократном внутрижелудочном введении в дозах 200 мг/кг, 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг. В каждую группу входило по 10 особей. Все испытуемые дозы экстракта растворяли в воде очищенной (ФС.2.2.0020.18) до необходимого объёма, составляющего 1,0 мл / 100 г массы животного.

Экстракт однократно вводили животным внутрижелудочно при помощи металлического зонда. Контрольной группе животных однократно вводили внутрижелудочно воду очищенную.

Токсический эффект экстракта оценивали по результатам наблюдения за общим состоянием животных с момента введения. Критериями оценки острой токсичности служили картина интоксикации и выживаемость животных. Длительность наблюдения за лабораторными животными составила 14 суток. В ходе эксперимента проведено наблюдение за поведением мышей, внешним видом, двигательной активностью, реакцией на внешние раздражители. В соответствии с действующей классификацией, володушки золотистой травы экстракт сухой является практически нетоксичным веществом [16].

Методики, используемые для определения противовоспалительной активности

Противовоспалительную активность володушки золотистой травы экстракта сухого изучали по влиянию на различные фазы острого воспалительного процесса: экссудацию, альтерацию и пролиферацию в условиях соответствующих экспериментальных моделей. Антиэкссудативную активность изучали с применением модели воспалительного отека. На модели острого асептического воспаления изучали влияние экстракта на процессы альтерации и регенерации. Влияние экстракта на процессы пролиферации изучали в условиях модели «ватной гранулемы». В качестве препарата сравнения использовался индометацин.

Метод изучения острой антиэкссудативной активности на модели формалинового отека

Животным в апоневроз вводили 0,1 мл 1% формалина [138]. Исследование противовоспалительной активности экстракта проводили при введении его внутривентрально в течение пяти дней до введения формалина и через 1 час после [137], препарат сравнения индометацин в дозе 5 мг/кг суспендировали в крахмальном геле и вводили по аналогичной схеме. Контрольным животным вводили в эквивалентном объёме воду очищенную. Через три часа на пике воспаления животных выводили из эксперимента с помощью углекислого газа и регистрировали прирост объёма экссудата ампутированных конечностей мышей (мг) судили по разнице в массе у контрольных и опытных животных и рассчитывали противоэкссудативный эффект по формуле:

$$\% \text{ угнетения отёка} = \frac{P_k - P_o}{P_k} \times 100,$$

где P_k – разность масс лапок с отёком и без отёка у животных контрольной группы; P_o – разность масс лапок с отёком и без отёка.

Метод изучения влияния на процессы альтерации и регенерации в очаге воспаления

Эксперимент проводили на нелинейных крысах самцах с массой тела 180-200 г. Альтеративную фазу воспалительной реакции у крыс моделировали путем подкожного введения 0,5 мл 9% раствора уксусной кислоты в область спинки (Шварц, Сюбаев, 2012). Одновременно вводили раствор декстрана внутривентрально в дозе 300 мг/кг. Экстракт растворяли в воде очищенной и вводили животным опытных групп внутривентрально за 1 час до введения раствора уксусной кислоты, а затем ежедневно 1 раз в сутки в течение 28 дней. Антиальтеративное действие экстракта определяли планиметрическим методом по степени развития некроза и регенерации тканей на 7, 14, 21 и 28 сутки.

Метод изучения влияния на процессы пролиферации

Модель «ватной гранулемы» позволяет охарактеризовать влияние изучаемого экстракта на процесс образования фиброзно-грануляционной ткани. Воспалительную реакцию воспроизводили по методу Ф. Тринус и соавт. [138]. Изучено влияние володушки золотистой травы экстракта сухого на течение хронической пролиферативной фазы воспаления у мышей на модели «*cotton pellet*». В эксперименте использовали нелинейных мышей самцов массой 18,0 - 22,0 г. Исследование противовоспалительной активности экстракта проводили при введении его внутривентрально. Экстракт растворяли в воде очищенной. Контрольным животным вводили в эквивалентном объёме воду очищенную.

Стерильные ватные шарики массой $4,0 \pm 1,0$ мг имплантировали под кожу мышей в подмышечную и паховую область. Операцию выполняли под легким

эфирным наркозом в асептических условиях. Исследуемые вещества вводили внутрь после имплантации и в течение последующих 7 дней.

На 8-е сутки мышей выводили из эксперимента с помощью углекислого газа. Затем производили извлечение гранулем. Гранулемы взвешивали сначала во влажном состоянии, а затем в высушенном до постоянного веса при температуре 80°C. Пролиферативную активность исследуемых веществ высчитывали по разнице между массой сухой и влажной гранулемы.

Методика, используемая для определения скорости циклооксигеназной реакции *in vitro*

Для выявления предполагаемого механизма действия проведено изучение влияния ВЗТЭС на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro*. Скорость реакции определяли полярографически по методу Вейна, на полярографе с защищенным электродом Кларка. Скорость циклооксигеназной реакции определяли по убыли кислорода при окислении арахидоновой кислоты взятой в качестве субстрата. В экспериментах использовали циклооксигеназу и арахидоновую кислоту фирмы «Sigma» (США) [124].

Методики, используемые для изучения мембраностабилизирующей и антиоксидантной активности

С целью изучения механизма действия ВЗТЭС исследовали его мембраностабилизирующие свойства и влияние изучаемого экстракта на процессы свободнорадикального окисления.

Антиоксидантную активность экстракта определяли с использованием модели деградации β -каротина пероксидом водорода в системе ДМСО – H_2O_2 при 50° с регистрацией падения оптической плотности спектрофотометрическим методом. Использовался однолучевой спектрофотометр (с дифракционным монохроматором для диапазона волн от 340 нм до 850 нм) «Spekol 10» фирмы «Карл Цейс Йена» (Германия). Антиоксидантную активность для данной концентрации средства выражали в % сохранности β -каротина. Деструкция β -каротина в системе ДМСО – H_2O_2 вызвана действием гидроперекисных соединений, образующихся из ДМСО под действием пероксида водорода. Антиоксидантное действие ВЗТЭС сравнивали с эффектом эталонного антиоксиданта ионола [124].

Наряду с этим проводили изучение мембраностабилизирующей активности ВЗТЭС. В качестве объекта исследования была использована 1%

суспензия отмытых человеческих эритроцитов. Мембраностабилизирующую активность ВЗТЭС определяли *in vitro* по степени гемолиза эритроцитов, который вызывали реактивом Фентона (перекисный гемолиз), а также добавлением воды дистиллированной (осмотический гемолиз). Компоненты, входящие в состав реактива Фентона, были использованы в минимальных концентрациях, вызывающих полный лизис 1% суспензии эритроцитов: $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0,01 мг/мл; H_2O_2 – 0,2 мг/мл (в пересчете на 100% раствора перекиси). Для получения осмотического гемолиза к суспензии эритроцитов добавляли равный объем воды дистиллированной. ВЗТЭС исследовали в концентрациях, соответствующих дозам 10, 50 и 100 мг/кг. Степень гемолиза эритроцитов человека определяли через 24 часа фотоколориметрическим методом при длине волны 420 нм. Действие изучаемого экстракта на степень гемолиза эритроцитов оценивали в процентах по отношению к поглощению в контроле (без добавления экстракта в инкубационную среду) [124].

Методики, используемые для определения гастропротективной активности

Метод изучения гастропротективной активности при острой экспериментальной этаноловой язве у крыс

Исследуемые вещества вводили в течение трех дней. Контрольным животным давали воду очищенную в эквивалентном объеме. Все вещества вводили крысам при помощи зонда в утренние часы, за 1 час до кормления. Для воспроизведения патологического состояния слизистой оболочки желудка использовали однократное введение крысам спирта этилового 96 % в дозе 1,0 мл на животное с последующей эвтаназией крыс в CO_2 камере через 1 час после введения спирта этилового.

Затем желудок и двенадцатиперстную кишку крыс извлекали. Желудок (по большой кривизне) и двенадцатиперстную кишку разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение $\times 8$, с миллиметровой шкалой) производили подсчет площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса (ИП):

$$\text{ИП} = \text{А} * \text{В} / 100,$$

где А – среднее количество язв на одно животное;

В – количество животных с язвами в группе.

Затем вычисляли терапевтический эффект (ТЭ) по формуле:

$$\text{ТЭ} = \text{ИП контроль} / \text{ИП опыт},$$

при $\text{ТЭ} = 2$ и более, считается, что исследуемые вещества оказывают гастропротективное действие [124].

Метод изучения гастропротективной активности при острой экспериментальной индометациновой язве у крыс

Исследуемые объекты вводили в течение трех дней. Контрольным животным вводили воду очищенную в эквивалентном объеме. Все вещества вводили крысам при помощи зонда в утренние часы, за 1 час до кормления.

Для воспроизведения патологического состояния слизистой оболочки желудка использовали однократное введение крысам индометацина в дозе 30 мг/кг, суспендированного в 1% крахмальном геле, с последующим выводом

крыс из эксперимента с помощью эвтанази в CO₂ камере через 24 часа после введения данного ульцерогена [32].

После эвтанази крыс в CO₂ камере желудок и двенадцатиперстную кишку извлекали, разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение х 8, с миллиметровой шкалой) производили подсчет количества и площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса и терапевтический эффект.

Метод изучения гастропротективной активности при субхронической экспериментальной бутадионовой язве у крыс

Фармакологические свойства веществ изучали при внутрижелудочном введении крысам. Язвенное поражение слизистой желудка воспроизводили внутрибрюшинным введением бутадиона («Мир-Фарм ЗАО», Россия) в дозе 100 мг/кг 1 раз в сутки в течение 3 дней подряд. С четвертого дня опытным крысам вводили в желудок исследуемые вещества соответственно 1 раз в сутки в течение 10 дней. В контроле крысам вводили эквивалентное количество воды очищенной в аналогичном режиме.

Эвтаназию животных опытных и контрольных проводили на 7, 14 и 21-е сутки с начала опытов в CO₂ камере. После эвтанази крыс в CO₂ камере желудок и двенадцатиперстную кишку извлекали, разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение х 8, с миллиметровой шкалой) производили подсчет количества и площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса (ИП) и терапевтический эффект (ТЭ).

Для оценки морфологических изменений при субхронической экспериментальной буллитной язве у крыс желудка животных фиксировали в 10%-ном забуференном нейтральном формалине с последующей стандартной спиртовой проводкой и заливкой в парафин по общепринятой методике [124]. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4-6 мкм. Гистологическое строение оценивали при окраске срезов гематоксилином и эозином. Морфологические исследования проводили с помощью микроскопа «Axio LAB.A1» с цифровой камерой «AxioCam ERc5s» с программным обеспечением для анализа изображений Axio Vision SE64 Rel.4.8.3 и ZEN 2012.

Методики, используемые для определения гепатопротективной активности

Метод изучения гепатопротективной активности при экспериментальном CCl_4 – индуцированном гепатите у крыс

Экспериментальный гепатит у животных вызывали однократным введением подкожно 50% масляного раствора тетрахлорметана («Реахим», Россия) в дозе 0,4 мл на 100 г через час после последнего введения исследуемого экстракта и препарата сравнения. Через 48 ч была взята кровь из хвостовой вены крыс, получена сыворотка и проведён её биохимический анализ. Затем было изучено влияние экстракта и препарата сравнения на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния гепатоцитов в сыворотке крови крыс с использованием биохимических наборов фирмы «Диакон» (Россия) и анализатора для клинической химии «Clima MC-15» (Италия) [124].

Крыс подвергли эвтаназии в CO_2 камере и извлекли печень для патогистологической оценки, также из печени интактных, контрольных и подопытных животных выделили микросомальную фракцию с применением метода дифференциального центрифугирования. В микросомальных фракциях печени экспериментальных групп животных определили содержание микросомального белка, а также показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P_{450} (цитохром P_{450} - комплекс белка с ковалентно связанным гемом (металлопротеином), обеспечивающим присоединение кислорода. Гем, в свою очередь, является комплексом протопорфирина IX и двухвалентного атома железа. Число 450 обозначает, что восстановленный гем, связанный с CO, отличается максимумом поглощения света при длине волны 450 нм), р-гидроксилирования анилина, N-деметиляции диметиланилина (ДМА) и скорости реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы (ГТФ), которая обеспечивает поддержание

пула, восстановленного глутатиона за счет использования в качестве восстановителя НАД(Ф)Н⁺ [164], отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени. С учетом всех исследуемых показателей оценивали гепатопротективные и детоксицирующие свойства изучаемого экстракта.

Для оценки морфологических изменений при экспериментальном гепатите печень животных фиксировали в 10%-ном забуференном нейтральном формалине с последующей стандартной спиртовой проводкой и заливкой в парафин по общепринятой методике [124]. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4-6 мкм. Гистологическое строение печени оценивали при окраске срезов гематоксилином и эозином. Морфологические исследования проводили с помощью микроскопа «Axio LAB.A1» с цифровой камерой «AxioCam ERc5s» с программным обеспечением для анализа изображений Axio Vision SE64 Rel.4.8.3 и ZEN 2012.

Метод изучения гепатопротективной активности при экспериментальном тетрациклиновом гепатите у крыс

Исследуемые вещества предварительно вводили 1 раз в сутки в течение 5 дней опытным группам лабораторных животных, в это же время контрольные крысы получали эквивалентный объём воды очищенной. С 6 по 10 сутки эксперимента животным контрольной и опытных групп вводили внутривенно тетрациклин в дозе 500 мг/кг. За 1 ч до введения тетрациклина опытные животные получали исследуемые вещества, а контрольные животные – воду очищенную. Затем через 48 ч была взята кровь из хвостовой вены крыс, получена сыворотка и проведён её биохимический анализ с использованием биохимических наборов фирмы «Диакон» (Россия) и анализатора для клинической химии «Clima MC-15» (Италия). Изучено влияние исследуемых веществ на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния

гепатоцитов в сыворотке крови крыс. Впоследствии крыс подвергли эвтаназии в CO₂ камере.

Статистический анализ

Статистические данные обрабатывали с помощью лицензионной программы «Statistica version 13» (TIBCO 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 $M \pm m$, где M - средняя арифметическая величина, m - ошибка средней арифметической [19, 75].

ГЛАВА 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО

3.1. Изучение острой токсичности володушки золотистой травы экстракта сухого

Одним из этапов изучения новых лекарственных средств является установление токсичности, в том числе острой [4, 14,124].

В соответствии с поставленными задачами, определение острой токсичности экстракта по методу Кербера проводили на 60 нелинейных мышах самцах с массой тела 18,0-22,0 г при однократном внутрижелудочном введении в дозах 200 мг/кг, 500 мг/кг, 1000 мг/кг, 1500 мг/кг, 2000 мг/кг. Лабораторных животных делили на 6 групп. В каждую экспериментальную группу входило по 10 особей. Испытуемые дозы экстракта сухого растворяли в воде очищенной (ФС.2.2.0020.18) до необходимого объёма, составляющего 1,0 мл/100 г массы животного.

Экстракт однократно вводили животным внутрижелудочно при помощи металлического зонда. Контрольной группе животных однократно вводили внутрижелудочно воду очищенную.

Токсический эффект экстракта оценивался по результатам наблюдения за общим состоянием животных с момента введения. При этом критериями оценки острой токсичности служили картина интоксикации и выживаемость животных. Длительность наблюдения за мышами составила 14 суток. В ходе эксперимента проведено наблюдение за поведением лабораторных животных, внешним видом, двигательной активностью, реакцией на внешние раздражители.

Изучение параметров острой токсичности ВЗТЭС по методу Кербера выявило, что у мышей всех групп в течение срока наблюдения (14 дней) не было клинических признаков интоксикации. Клинико-функциональный статус у них не имел отклонений от физиологического состояния, присущего мышам данной

возрастной группы. В течение периода наблюдения гибели мышей в опытных группах не было. Животные были активны, охотно поедали корм, адекватно реагировали на внешние раздражители. Мыши контрольной группы также оставались клинически здоровыми.

Таким образом, при изучении острой токсичности володушки золотистой травы экстракта сухого не установлены показатели LD_{50} , так как введенные дозы исследуемого экстракта в желудок мышам не вызывали гибели животных. Володушки золотистой травы экстракт сухой является практически нетоксичным веществом по действующей классификации [16].

3.2. Исследование противовоспалительных свойств володушки золотистой травы экстракта сухого

Воспаление – важный патогенетический компонент многих заболеваний различной этиологии. Воспаление возникает как реакция организма на патогенный раздражитель и на вызываемое им повреждение. Патогенетическую основу воспаления составляют три компонента (стадии) – альтерация, экссудация и пролиферация.

Воспаление начинается с повреждения ткани, комплекса обменных, физико-химических и структурно-функциональных изменений, т.е. с альтерации. Экссудация включает в себя сосудистые реакции и изменения кровообращения в очаге воспаления; выход жидкой части крови из сосудов – собственно экссудацию; выход лейкоцитов в очаг воспаления и развитие фагоцитоза.

Продуктивную или пролиферативную стадию воспаления иногда называют стадией репарации, что указывает на суть процесса в этот период, а также на биологическое значение воспаления, связывающего между собой результат повреждающего действия чрезвычайного раздражителя с процессами репарации. Пролиферацию завершает инволюция рубца, то есть уничтожение и элиминация лишних коллагеновых структур [27].

Противовоспалительную активность володушки золотистой травы экстракта сухого изучали по влиянию на различные фазы острого воспалительного процесса в условиях соответствующих экспериментальных моделей.

С целью реализации поставленных задач определение противовоспалительных свойств ВЗТЭС проводили на 30 нелинейных крысах самцах с исходной массой тела 180-200 г и на 80 нелинейных мышах самцах с исходной массой тела 18,0-22,0 г.

3.2.1. Изучение антиэкссудативной активности володушки золотистой травы экстракта сухого на модели формалинового отека

Проведено изучение влияния на течение острой экссудативной фазы воспаления володушки золотистой травы экстракта сухого на модели формалинового отёка лап мышей. В эксперименте использовались нелинейные мыши в количестве 40 особей массой тела 18,0-22,0 г. Животные были разделены на группы. 1 группа – контрольные животные, 2 и 3 - животные, получавшие исследуемый экстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг соответственно, 4 группа получала препарат сравнения. Для воспроизведения модели формалинового отека животным однократно в апоневроз вводили 0,1 мл 1% формалина [138].

Исследование противовоспалительной активности экстракта проводили в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг при введении его внутривентриально в течение пяти дней до введения формалина и через 1 час после. Препаратом сравнения являлся индометацин – известное противовоспалительное средство (таблетки 25 мг, «Софарма», Болгария) в дозе 5 мг/кг, его также вводили внутривентриально в течение пяти дней до введения формалина и через 1 час после [137]. Контрольным животным вводили в эквивалентном объёме воду очищенную. ВЗТЭС растворяли в воде очищенной, а индометацин – в 1% крахмальном геле.

Через три часа на пике воспаления животных выводили из эксперимента с помощью углекислого газа и регистрировали прирост объёма экссудата ампутированных конечностей мышей (мг) по разнице в массе у контрольных и опытных животных и рассчитывали противоэкссудативный эффект по формуле:

$$\% \text{ угнетения отёка} = \frac{P_k - P_o}{P_k} \times 100,$$

где P_k – разность масс лапок с отёком и без отёка у животных контрольной группы; P_o – разность масс лапок с отёком и без отёка у животных опытной группы.

Результаты эксперимента представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты влияния ВЗТЭС на течение экссудативной фазы воспаления у мышей при пятидневном введении, ($M \pm m$)

Группа животных, n=10	Доза, мг/кг	Прирост объема экссудата на пике воспаления, мг	Противовоспалительный эффект
			% к контролю
Контрольная	–	38.3±4,65	–
1 опытная ВЗТЭС	10	34,1±5,52	11
2 опытная ВЗТЭС	100	24,6±1,6*	36
3 опытная индометацин	5	20,80±4,2*	46

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

Полученные данные свидетельствуют о небольшой антиэкссудативной активности ВЗТЭС 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.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что володушки золотистой травы экстракт сухой в дозе 100 мг/кг оказывает достоверно выраженное антиэкссудативное действие.

3.2.2. Изучение влияния володушки золотистой травы экстракта сухого на процессы альтерации и регенерации в очаге воспаления с использованием модели острого асептического воспаления

Эксперимент проведен на 30 нелинейных крысах самцах с массой тела 180-200 г. Животные были разделены на группы: контрольные животные, получавшие воду очищенную, и 2 группы опытных животных, получавших изучаемый экстракт в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг соответственно.

Альтеративную фазу воспалительной реакции у крыс моделировали путем подкожного введения 0,5 мл 9% раствора уксусной кислоты в область спинки [124]. Одновременно вводили раствор декстрана внутривнутрибрюшинно в дозе 300 мг/кг. Экстракт растворяли в воде очищенной и вводили животным опытных групп внутривнутрибрюшинно в дозе 10 мг/кг и 100 мг/кг в за 1 час до введения раствора уксусной кислоты, а затем ежедневно 1 раз в сутки в течение 28 дней. Контрольным животным вводили воду очищенную по аналогичной схеме. Антиальтеративное действие экстракта определяли планиметрическим методом по степени развития некроза и регенерации тканей на 7, 14, 21 и 28 сутки.

Результаты эксперимента представлены в таблице 6.

Полученные данные свидетельствовали, что при введении белым крысам экстракта 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 (таблица 6). На фоне введения изучаемого экстракта в дозе 100 мг/кг животным выявлялись достоверные отличия – на 14%, 25%, 36% и 44% на 7, 14, 21 и 28 сутки опыта соответственно по сравнению с показателями крыс контрольной группы.

Таблица 6 – Влияние ВЗТЭС на течение альтеративной фазы воспалительной реакции у крыс, ($M \pm m$)

Группы животных, n=10	Площадь альтерации, мм ² 7 сутки	Площадь альтерации, мм ² 14 сутки	Площадь альтерации, мм ² 21 сутки	Площадь альтерации, мм ² 28 сутки
Контрольная	717,9±21,2	421,9±8,3	268,1±10,2	35,9±2,4
Опытная 1 ВЗТЭС 10 мг/кг	660,1±1,4*	343,8±7,5*	207,2±5,3*	26,1±1,5*
Опытная 2 ВЗТЭС 100 мг/кг	620,8±13,2*	316,2±11,2*	171,1±11,0*	19,6±1,8*

Таким образом, установлено, что володушки золотистой травы экстракт сухой оказывает достоверно выраженное антиальтеративное действие.

3.2.3. Изучение пролиферативной активности володушки золотистой травы экстракта сухого на модели «ватной гранулемы»

Изучено влияние володушки золотистой травы экстракта сухого на течение хронической пролиферативной фазы воспаления у мышей на модели «*cotton pellet*». В эксперименте использовались нелинейные мыши самцы в количестве 40 особей массой тела 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 пролиферативной активности экстракта проводили при введении его внутрижелудочно. Экстракт растворяли в воде очищенной.

Для воспроизведения модели «*cotton pellet*» стерильные ватные шарики массой $4,0 \pm 1,0$ мг имплантировали под кожу мышей в подмышечную область. Операцию выполняли под легким эфирным наркозом в асептических условиях. Исследуемые вещества вводили внутрь после имплантации и в течение последующих 7 дней. Объекты исследования вводили мышам при помощи зонда в утренние часы, за 1 час до кормления.

На 8-е сутки животных выводили из эксперимента с помощью углекислого газа. Затем производили извлечение гранулем. Гранулемы взвешивали сначала во влажном состоянии, а затем в высушенном до постоянного веса при температуре 80°C. Пролиферативную активность исследуемых веществ высчитывали по разнице между массой сухой и влажной гранулемы.

Результаты проведенного исследования представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Влияние ВЗТЭС на фазу пролиферации воспалительной реакции у белых мышей, (M±m)

Группа животных, n=10	Доза, мг/кг	Масса влажных гранулем мг	Масса сухих гранулем мг	Степень угнетения образования гранулем %
Контрольная	-	44,95±1,60	13,61±0,15	-
1 опытная ВЗТЭС	10	36,68±0,33*	9,57±0,07*	13
2 опытная ВЗТЭС	100	33,09±0,85*	9,00±0,12*	31

Как видно из таблицы 7, 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 фоне модели «*cotton pellet*» у мышей на 13% и 31% по сравнению с контролем.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что экстракт володушки в дозе 100 мг/кг оказывает достоверно выраженное антипролиферативное действие.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ввиду содержания в экстракте володушки следующих соединений: кверцетина, рутина,

изокверцетрина, изорамнетина, изорамнетин-3-рутинозида, феруловой, кофейной, хлорогеновой и аскорбиновой кислот обеспечивается комплексное воздействие на воспалительный процесс, сочетающее выраженный антиэкссудативный, антиальтеративный и антипролиферативный эффект [119, 150, 154, 165, 170, 181].

3.2.4. Изучение влияния володушки золотистой экстракта сухого на активность циклооксигеназы арахидоновой кислоты *in vitro*

Проведено изучение влияния ВЗТЭС на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro* для выяснения возможных механизмов противовоспалительного действия изучаемого экстракта.

Полученные результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – 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	100
ВЗТЭС 7 нг/мл пробы	0,60±0,01*	18,0
ВЗТЭС 30 нг/мл пробы	0,30±0,02*	10,1

Примечание: здесь и далее * - различия статистически значимы по сравнению с контролем (p<0,05).

Как видно из таблицы, ВЗТЭС оказывает непосредственное ингибирующее влияние на активность ЦОГ арахидоновой кислоты, угнетая скорость циклооксигеназной реакции на 82-90% в зависимости от концентрации экстракта в пробе.

Результаты, полученные в условиях *in vitro*, подтвердили данные исследования противовоспалительной активности ВЗТЭС на животных и свидетельствуют в пользу того, что одним из механизмов реализации противовоспалительных свойств экстракта является его прямое влияние на ингибирование циклооксигеназной реакции.

3.2.5. Изучение антиоксидантных свойств и мембраностабилизирующей активности ВЗТЭС

Большое количество патологических состояний сопровождается изменениями процессов свободнорадикального окисления, интенсивность которых определяется соотношением систем, активирующих свободнорадикальное окисление и систем, осуществляющих антиоксидантную защиту [84].

При патологиях наиболее часто наблюдается активация процессов перекисного окисления липидов и снижение активности системы эндогенной антиоксидантной защиты. В связи с этим было проведено исследование антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности изучаемого экстракта.

Оценку влияния ВЗТЭС на интенсивность процессов свободнорадикального окисления проводили с использованием модельных систем. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Динамика деградации β -каротина в присутствии ВЗТЭС и ионола. % сохранности β -каротина

Концент- рация, мкг/мл	Время, мин						
	0	20	40	60	80	100	120
Ионол							
60	100	100	100	100	94.30	88.30	83.75
120	100	100	100	100	100	100	100
ВЗТЭС							
60	100	90.50	82.01	65.70	50.61	36.50	29.59
120	100	94.40	94.31	93.07	92.63	92.62	91.02
180	100	100	100	98.03	96.00	95.04	93.39
240	100	100	100	100	100	100	99.11
300	100	100	100	100	100	100	100
Контроль							
-	100	82.22	59.51	42.19	30.83	21.02	13.55

Антиоксидантная активность исследуемого экстракта в концентрации 300 мкг/мл сравнима с таковой у ионола в концентрации 120 мкг/мл. ВЗТЭС в аналогичной концентрации сохраняет более 90% β -каротина, что говорит об выраженной антиоксидантной активности изучаемого экстракта.

Исследование влияния ВЗТЭС на процессы свободнорадикального окисления показало, что изучаемый экстракт проявляет выраженную антиоксидантную активность, соответствующую эталонному антиоксиданту ионолу. Можно утверждать, что ВЗТЭС является выраженным ингибитором процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул.

Результаты экспериментов по изучению мембраностабилизирующей активности ВЗТЭС представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Влияние ВЗТЭС на перекисный и осмотический гемолиз эритроцитов, (M±m)

Условия опыта	Концентрация, мг/мл	Перекисный гемолиз, %	Осмотический гемолиз, %
Контроль (гемолиз)	-	92,0 ± 1,5	84,0 ± 2,0
Опыт (гемолиз+ ВЗТЭС)	0,10	91,0 ± 1,0	81,0 ± 2,0
	0,50	88,0 ± 2,0	82,0 ± 1,0
	1,00	32,0 ± 1,0*	83,0 ± 4,0

ВЗТЭС в концентрации 1,00 мг/мл оказывает мембраностабилизирующее действие, о чем свидетельствует уменьшение степени перекисного гемолиза эритроцитов в модельной системе. В этом случае гемолиз эритроцитов уменьшается в 3 раза по сравнению с контролем. На осмотический гемолиз эритроцитов исследуемый экстракт не оказывает значимого влияния.

Как известно, свободные радикалы, образующиеся при распаде реактива Фентона, индуцируют перекисное окисление липидов клеточных мембран с последующим лизисом клеток. Можно полагать, что основой мембранопротекторного действия ВЗТЭС является ингибирование процессов свободнорадикального окисления [84].

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что исследуемый экстракт в концентрации 1,00 мг/мл проявляет мембраностабилизирующую активность.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ЖЕЛУДКА

Были проведены исследования по изучению гастропротективной эффективности ВЗТЭС в условиях моделей острой этаноловой язвы и острой индометациновой язвы, определению его гастропротективной эффективности на модели субхронической бутадионовой язвы.

Определение гастропротективных свойств володушки золотистой травы экстракта сухого проводили на 176 белых нелинейных крысах самцах с исходной массой тела 180-200 г.

4.1. Исследование гастропротективной эффективности володушки золотистой травы экстракта сухого при острой этаноловой язве у крыс

Проведено изучение гастропротективной эффективности володушки золотистой травы экстракта сухого в условиях модели острой этаноловой язвы у крыс [11,124]. Эксперимент проведен на 40 белых нелинейных крысах-самцах массой тела 180-200 г.

Фармакологические свойства экстракта изучали при его внутрижелудочном введении крысам. Животных разделили на 4 экспериментальных группы, по 10 крыс в каждой. Растворяли экстракт 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 использовали лекарственный препарат плантаглоцид в дозе 250 мг/кг (ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия) – 3 опытная группа. Для крыс массой тела 180-200 г, доза введения плантаглоцида составляет 250 мг/кг согласно «Инструкции по медицинскому применению препарата» в соответствии с коэффициентом пересчёта доз для лабораторных крыс [124].

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.

Для воспроизведения патологического состояния слизистой оболочки 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. Желудок (по большой кривизне) и двенадцатиперстную кишку разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение х 8, с миллиметровой шкалой) производили подсчет площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса (ИП):

$$\text{ИП} = \text{А} * \text{В} / 100,$$

где А – среднее количество язв на одно животное;

В – количество животных с язвами в группе.

Затем вычисляли терапевтический эффект (ТЭ) по формуле:

$$\text{ТЭ} = \text{ИП контроль} / \text{ИП опыт},$$

где ИП контроль – Индекс Паулса в контрольной группе животных, а ИП опыт - Индекс Паулса в опытной группе животных.

При ТЭ = 2 и более, считается, что исследуемые вещества оказывают гастропротективное действие [124].

Результаты изучения гастропротективной активности ВЗТЭС на этаноловой модели поражения слизистой желудка приведены в таблице 11.

Таблица 11 – Изучение противоязвенной активности ВЗТЭС на этаноловой модели поражения слизистой желудка крыс ($M \pm m$)

Группы животных, n=10	Крысы с язвами, %	Средняя площадь язвенной поверхности, мм ²	Индекс Паулса, отклонение %	ТЭ
Контрольная	100	22,07±3,08	22,07	-
1 опытная ВЗТЭС 10 мг/кг	80	3,53±0,62*	2,82 – 87 %	7,8
1 опытная ВЗТЭС 100 мг/кг	66,7	4,57±0,70*	3,04 – 86 %	7,2
3 опытная плантаглюцид 250 мг/кг	100	8,06 ± 0,15*	8,06 – 63 %	2,7

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

В условиях этаноловой экспериментальной модели язвы желудка при введении экстракта володушки в дозе 10 мг/кг, выявлен достоверный гастропротективный эффект – уменьшение площади язвенных дефектов на 87%, ТЭ = 7,8. При введении экстракта в дозе 100 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращалась на 86%, ТЭ = 7,3. При введении препарата-референта

плантаглюцида в дозе 250 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращалась на 63%.

Таким образом, володушки золотистой травы экстракт сухой оказывает достоверно выраженный гастропротективный эффект в условиях экспериментальной острой этаноловой язвы.

4.2. Исследование гастропротективной эффективности володушки золотистой травы экстракта сухого в условиях индометациновой язвы у крыс

Проведено изучение влияния володушки золотистой травы экстракта сухого на состояние слизистой оболочки желудка у крыс в условиях острых экспериментальных язв с использованием индометациновой модели [111].

Исследование было выполнено на 40 нелинейных белых крысах-самцах массой тела 180-200 г, которые 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 при помощи зонда в утренние часы, за 1 час до кормления.

Для воспроизведения патологического состояния слизистой оболочки 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 ульцерогена [32].

После эвтаназии крыс в CO₂ камере желудок и двенадцатиперстную кишку извлекали, разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение x 8, с миллиметровой шкалой) производили подсчет количества и площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса и терапевтический эффект.

Результаты изучения противоязвенной активности володушки золотистой травы экстракта сухого на индометациновой модели поражения слизистой желудка приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Влияние ВЗТЭС на экспериментальные язвы желудка у крыс, вызванные введением индометацина ($M \pm m$)

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

Изучение гастропротективной активности экстракта володушки на индометациновой модели поражения слизистой желудка, в которой регистрируются изменения через 24 часа после воздействия, показало, что экстракт защищает слизистую желудка от поражающего фактора индометацина. При введении экстракта володушки золотистой в дозе 10 мг/кг проявляется выраженный гастропротективный эффект: уменьшение площади язвенной поверхности 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 препарата сравнения плантаглоцида в дозе 250 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращается на 49%.

Таким образом, володушки золотистой травы экстракт сухой оказывает достоверно выраженный гастропротективный эффект в условиях экспериментальной индометациновой язвы.

4.3. Исследование гастропротективной эффективности володушки золотистой травы экстракта сухого при субхронической бутадионовой язве желудка у крыс

Противоязвенную активность володушки золотистой травы экстракта сухого изучали в условиях модели субхронической бутадионовой язвы желудка у крыс [11].

Исследование было выполнено на 96 нелинейных белых крысах-самцах массой 180-200 г, которые были разделены на четыре группы по 24 особи. Фармакологические свойства экстракта изучали при его внутрижелудочном введении крысам.

Исследуемый экстракт растворяли в воде очищенной и вводили его в течение трех дней в дозах 10 мг/кг (1 группа) и 100 мг/кг (2 группа). В качестве препарата сравнения использовали плантаглоцид в изоэффективной дозе 250 мг/кг. Его растворяли в воде очищенной и вводили в течение 3 дней животным (3 опытная группа). Язвенное поражение слизистой желудка воспроизводили внутрибрюшинным введением бутадиона в дозе 100 мг/кг 1 раз в сутки в течение 3 дней. С четвертого дня опытным крысам вводили в желудок экстракт и плантаглоцид в указанных дозах соответственно 1 раз в сутки в течение 10 дней. В контроле крысам вводили эквивалентное количество воды очищенной в аналогичном режиме.

Эвтаназию животных опытных и контрольных групп проводили на 7-е, 14-е и 21-е сутки с начала опытов в CO₂ камере. После эвтаназии крыс желудок и двенадцатиперстную кишку извлекали, разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение x 8, с миллиметровой шкалой) производили подсчет количества и площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса и терапевтический эффект.

Проведено изучение влияния полученного экстракта на течение бутадионовой язвы желудка у белых крыс. Как видно из данных, приведенных в таблице 10, введение экстракта ограничивает образование язвенных дефектов, установленный эффект наиболее выражен на 14-е и 21-е сутки наблюдений. Референтный препарат также уменьшал размеры язвенных поражений слизистой желудка, уступая по эффективности экстракту.

Таблица 13 – Влияние ВЗТЭС на течение экспериментальных бутадионовых язв желудка у крыс на 14-е сутки опыта, ($M \pm m$)

Группа животных n=24 (доза, мг/кг)	Площадь язвенных дефектов (мм ²), 7 сутки	Площадь язвенных дефектов (мм ²), 14 сутки	Площадь язвенных дефектов (мм ²), 21 сутки
Контрольная (бутадион + вода)	83,9 ± 1,10	69,5 ± 2,20	51,8 ± 1,55
1 опытная (ВЗТЭС 10 мг/кг + бутадион)	72,4 ± 1,14*	47,9 ± 1,21*	20,7 ± 0,30*
2 опытная (ВЗТЭС 100 мг/кг + бутадион)	65,9 ± 0,42*	46,6 ± 1,10*	14,1 ± 0,22*
3 опытная (плантаглюцид 250 мг/кг + бутадион)	70,4 ± 1,51*	51,0 ± 0,17*	25,4 ± 0,46*

Выраженное противоязвенное действие экстракта на поздних сроках течения патологического процесса, очевидно, обусловлено ускоренной регенерацией клеток эпителия слизистой.

Таблица 14 – Влияние ВЗТЭС на течение бутадионовой язвы желудка у белых крыс на 21-е сутки опыта, (M±m)

Группа Животных, n=24 (доза, мг/кг)	Кол-во крыс с язвами, %	Площадь язвенных дефектов (мм ²) 21 сутки	Индекс Паулса, отклонение в %	ТЭ
Контрольная (бутадион + вода)	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 (плантаглоцид 250 мг/кг + бутадион)	78	25,4 ± 0,46*	20 -51%	2,0

На 21-е сутки введения экстракта володушки золотистой в дозе 10 мг/кг проявляется выраженный гастропротективный эффект: уменьшение площади язвенной поверхности на 60 %, ТЭ = 3,1 по сравнению с контролем. При введении экстракта в дозе 100 мг/кг, происходит уменьшение площади язвенной поверхности на 70 %, ТЭ = 7,4. При введении препарата сравнения плантаглоцида в дозе 250 мг/кг площадь язвенных дефектов сокращается на 51%, ТЭ = 2,0 (по сравнению с контролем).

При гистологическом исследовании в данном эксперименте было установлено, что на 7-е сутки в контроле обнаруживается глубокий язвенный дефект, заполненный некротическими массами (сращенный эпителий, сгустки крови, слизь), вокруг язвы складки слизистой были утолщены, инфильтрированы лейкоцитами. Края дефекта были неровными, наблюдали выраженный отек и инфильтрацию слизистого и подслизистого слоев гранулоцитами, в небольшом количестве обнаруживали лимфоциты. Вдали от язвенного дефекта были видны многочисленные эрозии (рисунок 2).

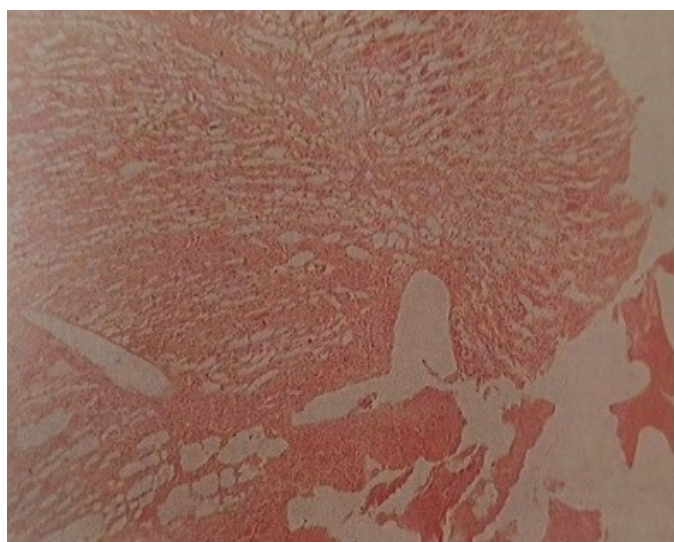


Рисунок 2 – Субхроническая бутадиионовая язва, 7-е сутки исследования. Стенка желудка крысы контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400

На фоне введения экстракта животным опытной группы 1 в инфильтрате слизистой и подслизистой доминировали лимфоциты, складки слизистой были отечны, гиперемизированы, размеры дефекта были значительно меньше, чем в контроле, а вокруг язвы обнаруживали единичные эрозии и точечные кровоизлияния. В опытной группе 2 также размеры язвенного дефекта были меньше, чем у крыс контрольной группы животных, наблюдали также отек и инфильтрацию слизистого и подслизистого слоев преимущественно лейкоцитами.

На 14-е сутки эксперимента у крыс контрольной группы сохранялся обширный и глубокий дефект с некротическими массами, стенка желудка в области язвы была утолщена, инфильтрирована, наблюдалась выраженная воспалительная реакция с отеком всех слоев. В инфильтрате уже были заметны макрофаги, фибробласты. На дне язвы обнаруживали новообразования сосудов, сохранялись отек и выраженная гиперемия. У краев язвы обнаруживали слизистые железки (рисунок 3).

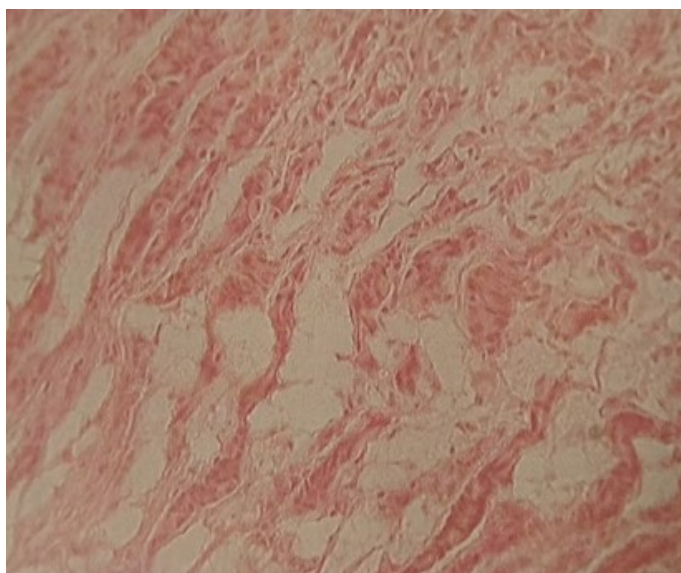


Рисунок 3 – Субхроническая бутадионовая язва, 14-е сутки. Стенка желудка крысы контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400

В опытных группах 1 и 2 были заметны процессы активного заживления дефекта с грануляцией, заполняющей язвенные полости, были обнаружены участки покровного эпителия с высоким содержанием слизи (рисунок 4). На фоне введения референтного препарата наблюдали аналогичную тенденцию с менее выраженной активностью регенераторных процессов.

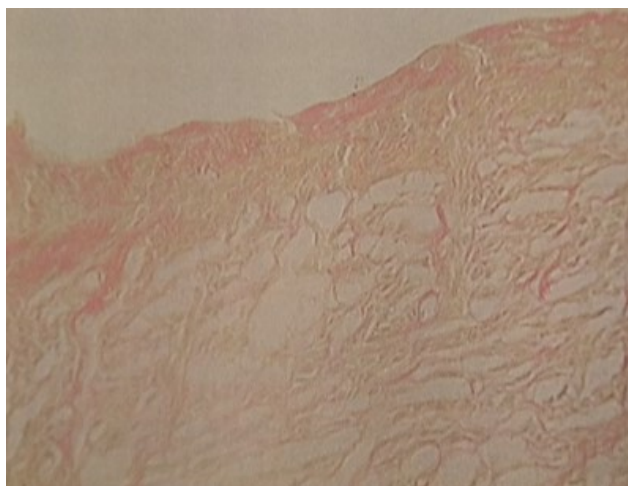


Рисунок 4 – Субхроническая бутадионовая язва, 14-е сутки. Стенка желудка крысы, получавшей экстракт в дозе 100 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400

Спустя 21 сутки опыта в контрольной группе крыс наблюдали явления частичного очищения язвенного дефекта от некротических масс, сохранялся отек всех слоев стенки, была заметна гиперемия зоны повреждения (рисунок 5).

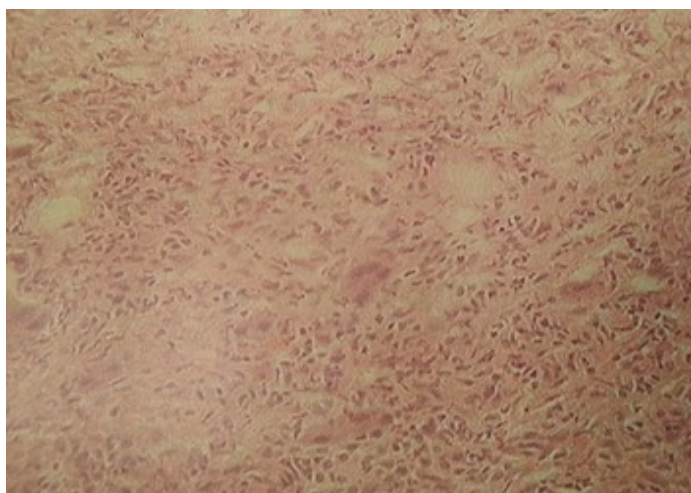


Рисунок 5 – Субхроническая бутадионовая язва, 21-е сутки. Стенка желудка крысы контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400

В опытных группах животных, получавших володушки золотистой травы экстракт сухой, были отчетливо заметны процессы активной регенерации в зоне дефекта, рубцы практически заполняли дефект (рисунок 6).

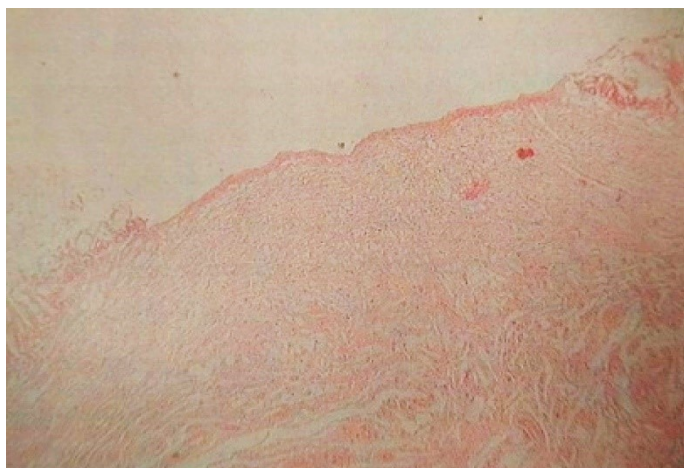


Рисунок 6 – Субхроническая бутадионовая язва, 21-е сутки. Стенка желудка крысы, получавшей экстракт в дозе 100мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 400

В группе животных с введением плантаглюцида также было отмечено усиление репаративных процессов. Полного заживления язвенного дефекта с восстановлением слизистой отмечено у этих животных не было.

Володушки золотистой травы экстракт сухой оказывает достоверно выраженное гастропротективное действие в условиях экспериментальной бутадионовой язвы.

Данные проведенных исследований свидетельствуют о выраженной противоязвенной активности володушки золотистой травы экстракта сухого, которая превосходит эффект плантаглюцида в опытах на крысах с повреждениями слизистой желудка.

Введение животным экстракта и референтного препарата характеризуется закономерным снижением индекса Паулса и повышением ТЭ, основных критериев оценки противоязвенной активности лекарственных препаратов.

Сумма биологически активных веществ, находящихся в экстракте, способствует ускорению заживления язвенных дефектов, благодаря его влиянию на основные патогенетические механизмы указанной патологии [144, 185].

Таким образом, володушки золотистой травы экстракт сухой проявляет достоверно выраженную противоязвенную активность в условиях экспериментальных этаноловой и индометациновой язв слизистой желудка. Володушки золотистой травы экстракт сухой оказывает достоверно выраженное гастропротективное действие в условиях экспериментальной бутадионовой язвы слизистой желудка. Комплекс биологически активных веществ, имеющих в экстракте, способствует ускорению заживления язвенных дефектов, благодаря его влиянию на основные патогенетические механизмы указанной патологии.

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ ТРАВЫ ЭКСТРАКТА СУХОГО ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ ПЕЧЕНИ

Наряду с определением противовоспалительной и противоязвенной активности в задачи исследований входило изучение гепатопротективного действия ВЗТЭС на различных экспериментальных моделях гепатита.

Определение гепатопротективных свойств ВЗТЭС проводили на 80 белых нелинейных крысах самцах с исходной массой 180-200 г.

5.1. Изучение гепатопротективной активности володушки золотистой травы экстракта сухого при повреждении печени, вызванном введением тетрахлорметана

В исследованиях повреждений печени, к числу часто применяемых моделей относится острое поражение печени при интоксикации тетрахлорметаном (CCl_4). Модель CCl_4 - индуцированного острого токсического гепатита рекомендована как основной тест при скрининге потенциальных гепатозащитных средств [25, 124]. Введение CCl_4 приводит к развитию дистрофических и некротических изменений в печени. [196, 197].

Механизм повреждающего действия CCl_4 основан на образовании в эндоплазматическом ретикулуме активных радикалов, которые формируются при его расщеплении цитохромом P_{450} [155]. CCl_4 вызывает центрлобулярные повреждения, переходящие в фиброз и цирроз [199].

Подкожное введение CCl_4 приводит к острому повреждению печени. Оно характеризуется центродолевым некрозом, развитием токсической дистрофии печени, креатинемией, повышением уровня трансаминаз, холестаазом [118].

На этом основании гепатопротективные свойства ВЗТЭС определяли в условиях экспериментального тетрахлорметанового гепатита на 50 белых нелинейных крысах самцах с исходной массой 180-200 г [118].

Фармакологические свойства ВЗТЭС изучали при его внутрижелудочном введении крысам. Экстракт растворяли в воде очищенной. Подопытные животные были разделены на пять групп по 10 особей: 1-я – интактные животные; 2-я – контрольные животные, у которых моделировали CCl_4 -гепатит, при этом им перед введением CCl_4 три дня давали эквивалентное количество очищенной воды в аналогичном с опытными группами режиме, внутрижелудочно; 3- и 4-я группы – опытные, которые получали перед введением CCl_4 ВЗТЭС три дня в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг, соответственно; 5-я группа животных профилактически получала препарат сравнения силимар в дозе 100 мг/кг, суспендированный в 1% крахмальном геле, в течение трёхдневного срока.

Экспериментальный гепатит у животных вызывали однократным введением подкожно 50% масляного раствора CCl_4 в дозе 0,4 мл на 100 г массы животного через час после последнего введения исследуемого экстракта и препарата сравнения силимара. Через 48 ч были взяты из хвостовой вены пробы периферической крови для исследования биохимических показателей, получена сыворотка и проведён её биохимический анализ. Затем было изучено влияние ВЗТЭС и препарата сравнения на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния печени сыворотки крови крыс [124].

Крыс подвергли эвтаназии в CO_2 камере и извлекли печень для патогистологической оценки, также из печени интактных, контрольных и подопытных животных выделили микросомальную фракцию с применением метода дифференциального центрифугирования [65]. В микросомальных фракциях печени экспериментальных групп животных определили содержание микросомального белка [2] и цитохрома P_{450} [187], а также показатели скорости монооксигеназных реакций, катализируемых цитохромом P_{450} , р-

гидроксилирования анилина, N-деметилирования диметиланилина (ДМА) и скорости реакции конъюгации с участием глутатионтрансферазы (ГТФ), отражающие активность детоксицирующей микросомальной системы печени. С учетом всех исследуемых показателей оценивали гепатопротективные и детоксицирующие свойства изучаемого экстракта.

Результаты изучения детоксицирующих свойств ВЗТЭС в сравнении с референтным препаратом в экспериментах на животных с воспроизведенным CCl_4 гепатитом приведены на рисунках 7, 8 и в таблице 15.

При сравнении содержания белка и цитохрома P_{450} в микросомальных фракциях печени подопытных животных с фракцией из печени интактных крыс (рисунки 7, 8) установлено: однократное введение CCl_4 достоверно увеличивает содержание микросомального белка на 15%, при этом содержание цитохрома P_{450} на 1 мг микросомального белка снижается на 34% по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$). Это свидетельствует о токсическом воздействии CCl_4 на печень.

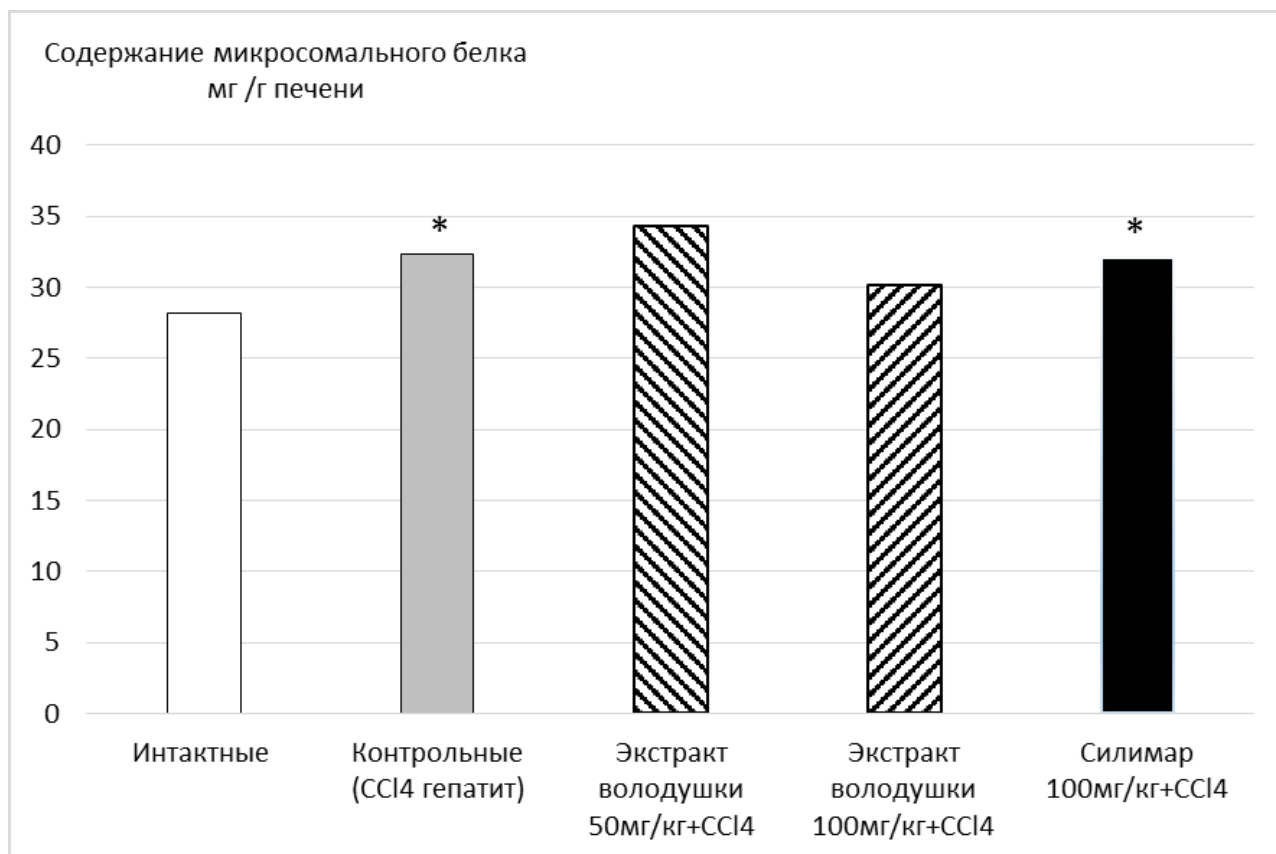


Рисунок 7 – Влияние ВЗТЭС на содержание микросомального белка в условиях модели CCl₄ гепатита у крыс

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

Как видно из рисунков 7 и 8, однократное введение тетрахлорметана на фоне приема животными ВЗТЭС в дозе 50 мг/кг активизирует синтез микросомального белка на 20 % в печени, способствует нормализации содержания цитохрома P₄₅₀ по сравнению с интактными крысами.

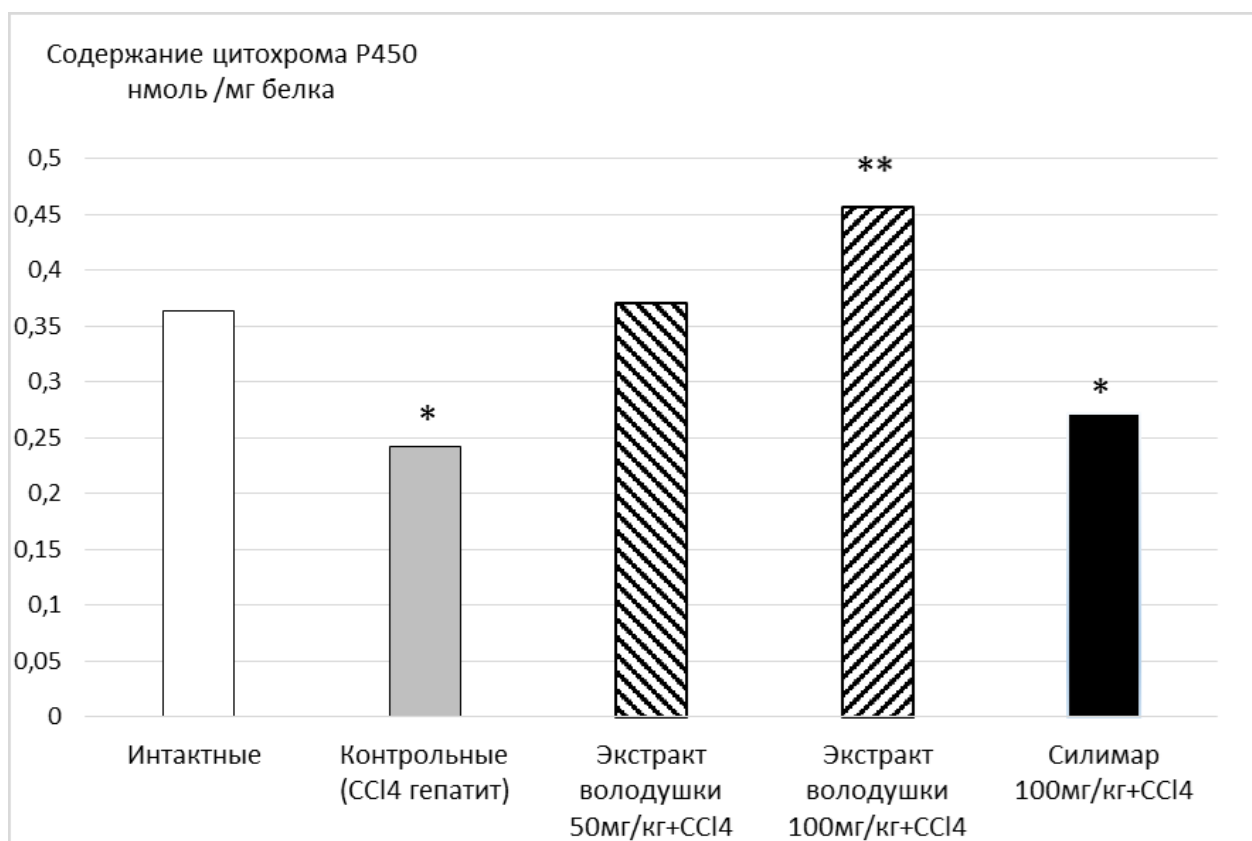


Рисунок 8 – Влияние ВЗТЭС на содержание цитохрома P₄₅₀ в условиях модели CCl₄ гепатита у крыс

Примечание:

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

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

Экстракт 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 ($p < 0,05$).

В таблице 15 представлены результаты исследования активности цитохрома P₄₅₀ по специфическим реакциям с субстратами анилин и ДМА.

Таблица 15 – Влияние ВЗТЭС на активность цитохрома P₄₅₀ в условиях модели CCl₄ гепатита у крыс, (M±m)

Группы животных, (n=10)	Активность цитохрома P ₄₅₀ , (M ± m)			
	Скорость гидроксилирования анилина		Скорость деметилирования ДМА	
	нмоль НАДФН/ нмоль цитохрома P ₄₅₀ в мин (M ± m)	Оп/К (%)	нмоль НАДФН/ нмоль цитохрома P ₄₅₀ в мин (M ± m)	Оп/К (%)
Интактная	1,45 ± 0,04	100	1,23 ± 0,05	100
Контрольная (H ₂ O + CCl ₄)	0,50 ± 0,03*	35	1,02 ± 0,04*	82
1 опытная (ВЗТЭС 50 мг/кг+CCl ₄)	1,39 ± 0,04	96	1,77 ± 0,05**	143
2 опытная (ВЗТЭС 100 мг/кг+CCl ₄)	1,45 ± 0,03*	100	1,82 ± 0,06**	148
3 опытная (силимар 100 мг/кг+CCl ₄)	0,64 ± 0,06*	44	0,75 ± 0,02*	61

Примечание:

Оп/К – отношение результатов в опыте к контролю (CCl₄ гепатит);

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

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

Как видно из представленных данных, гепатит, вызванный однократным введением CCl_4 , снижает как содержание цитохрома P_{450} в микросомальной фракции, так и его специфическую ферментативную анилингидроксилазную и деметилазную активность, соответственно в 2,9 и 1,2 раза ($p < 0,05$), что свидетельствует о токсическом повреждении печени животных.

Предварительное введение животным ВЗТЭС в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг показало существенный гепатопротективный и антитоксический эффект по отношению к действию тетрахлорметана. Об этом свидетельствует высокая ферментативная активность центра гидроксилирования цитохрома P_{450} и индукция его количества в микросомах, вследствие чего достоверно активизируется процесс деметилирования в 1,4 - 1,5 раза. Препарат сравнения силимар также показал антитоксическую и гепатопротективную активность по отношению к тетрахлорметану.

В таблице 16 представлены данные об изменениях активности глутатионтрансферазы – по скорости образования продукта реакции конъюгации с глутатионом у различных экспериментальных групп животных.

Таблица 16 – Влияние ВЗТЭС на ГТФ в условиях модели тетрахлорметанового гепатита у крыс, (M±m)

Группы животных, (n=10)	Активность ГТФ нмоль/ мг белка мин
Интактная	120,05 ± 2,16
Контрольная (H ₂ O + CCl ₄)	105,11 ± 1,24
1 опытная (ВЗТЭС 50 мг/кг+CCl ₄)	127,82 ± 2,56*
2 опытная (ВЗТЭС 100 мг/кг+CCl ₄)	136,43± 2,22*
3 опытная (силимар 100 мг/кг+CCl ₄)	120,24± 2,13*

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

Большое значение для сравнительной оценки детоксицирующих свойств экстракта володушки имеет изучение его влияния на активность ГТФ, которая участвует в конъюгации токсических продуктов, образующихся в монооксигеназной системе цитохрома P₄₅₀ на первом этапе биотрансформации. У контрольных крыс с воспроизведенным токсическим гепатитом по сравнению

с интактными животными произошло снижение скорости ферментативных реакций, катализируемых ГТФ, на 12%, что свидетельствует о токсическом воздействии CCl_4 на печень. По сравнению с контрольной группой, у животных опытной группы, получавшей ВЗТЭС в дозе 50 мг/кг, скорость ГТФ-реакции достоверно увеличилась на 22%. А у группы, получавшей экстракт в дозе 100 мг/кг, – на 30%. В группе крыс, получавших силимар, скорость ГТФ-реакции увеличилась на 14% в сравнении с контрольной группой животных. Полученные результаты свидетельствуют о более выраженных активирующих детоксикацию свойствах экстракта володушки по сравнению с силимаром.

Данные проведенных исследований свидетельствуют о выраженной гепатопротективной активности изучаемого экстракта, которая превосходит эффект силимара.

Экспериментально установлено, что объект исследования в условиях моделирования тетрахлорметанового гепатита у крыс обладает гепатопротективными и детоксицирующими свойствами в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг; при этом эффект экстракта превосходит эффект силимара в аналогичной дозе. Установлен активирующий эффект экстракта володушки в дозе 100 мг/кг на ферменты микросомальной системы детоксикации печени крыс цитохром P_{450} и глутатионтрансферазу.

Проведено изучение влияния экстракта и препарата сравнения на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния печени в сыворотке крови крыс.

Для установления гепатопротективной эффективности объекта исследования изучена активность индикаторных ферментов цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ), экскреционного фермента маркера холестаза - щелочной фосфатазы, а также содержание общего билирубина в условиях экспериментального тетрахлорметанового гепатита.

Результаты проведенных экспериментов представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Влияние ВЗТЭС на активность ферментов маркеров морфофункционального состояния печени сыворотки крови крыс на модели тетрахлорметанового гепатита, (M±m)

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

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

Классическая модель острого повреждения печени, вызванная введением тетрахлорметана, позволяет воспроизвести основные патогенетические синдромы и патоморфологические изменения, индуцированные образованием свободнорадикальных метаболитов [26].

Введение подопытным животным тетрахлорметана вызвало выраженные изменения активности индикаторных ферментов цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ), экскреционного фермента маркера холестаза - щелочной фосфатазы, общего билирубина. У животных контрольной группы при введении тетрахлорметана отмечено существенное увеличение активности этих показателей, также наблюдалось ухудшение общего состояния экспериментальных животных, уменьшение их массы, и снижение двигательной активности по сравнению с интактными крысами.

Введение лабораторным животным ВЗТЭС на фоне токсического гепатита в дозе 50 мг/кг снижало активность АЛТ на 32%, АСТ – 29%, щелочной фосфатазы – 13%, содержание общего билирубина в сыворотке крови животных - 18%. Экстракт в дозе 100 мг/кг снижал активность АЛТ на 64%, АСТ – 35%, щелочной фосфатазы – 22%, а содержание общего билирубина – 21%.

Изучение препарата сравнения 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 – 30%. Препарат сравнения снижал активность щелочной фосфатазы на 13%, а содержание общего билирубина в сыворотке крови животных –19%.

Проведено сравнительное патогистологическое исследование печени крыс, получавших внутрижелудочно володушки золотистой травы экстракт сухой и препарат сравнения – силимар на модели тетрахлорметанового гепатита.

Результаты проведенных исследований представлены на рисунках 9-13.

Патоморфологические исследования показали, что у животных интактной группы морфологическое строение образцов печени, соответствует гистологической норме (рисунок 9).

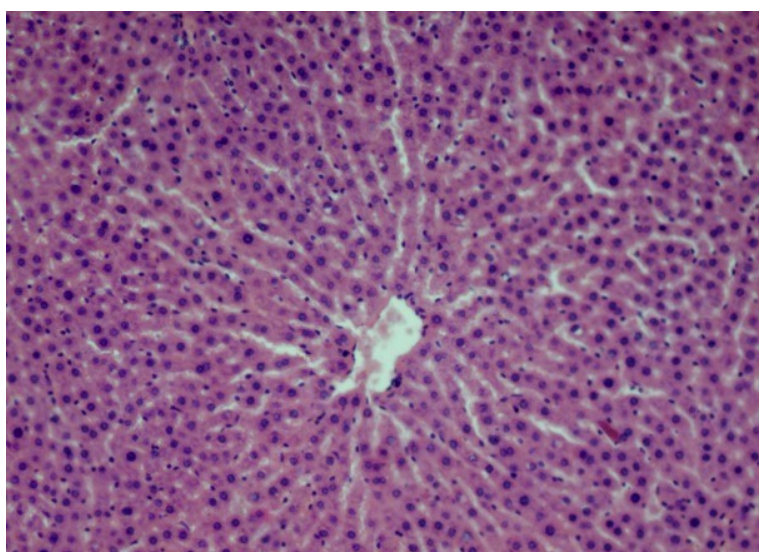


Рисунок 9 – Морфофункциональное строение печени крыс интактной группы.

Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 100

У животных контрольной группы капсула печени состоит из расположенных компактно волокон соединительной ткани. Печеночные балки ориентированы радиарно, дольки сформированы правильно, гепатоциты имеют бледно-эозинофильную цитоплазму, ядра сохранены. Архитектоника сосудов соответствует норме. Эндотелий сосудов портального тракта не изменён, желчные протоки выстланы кубическим эпителием. Сосуды полнокровны. Во всех случаях наблюдаются дистрофические изменения по типу гиалиново-капельной дистрофии (рисунок 10).

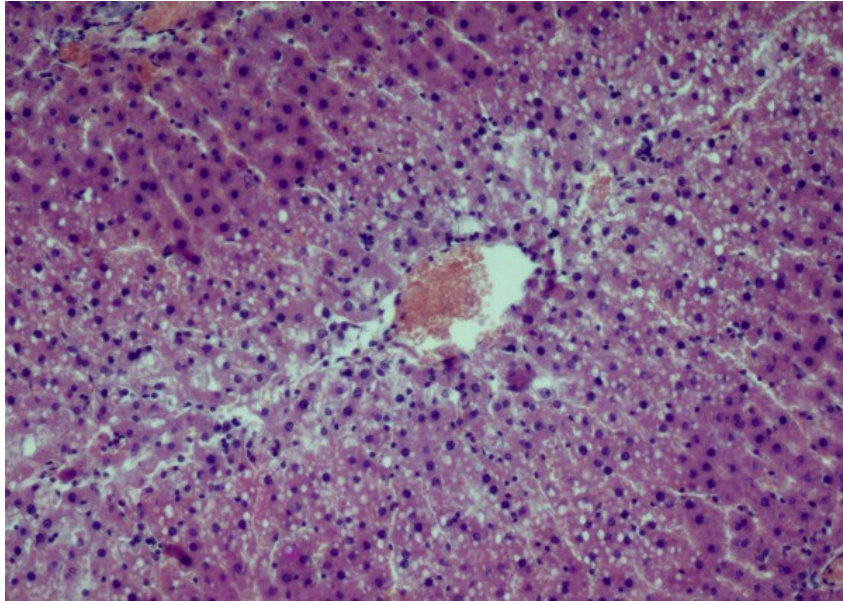


Рисунок 10 – Морфофункциональное строение печени крыс контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 100

У животных, получавших экстракт в дозе 50 мг/кг (3 группа) капсула печени состоит из расположенных компактно волокон соединительной ткани (рисунок 11). Печеночные балки ориентированы радиарно, дольки сформированы правильно, гепатоциты имеют бледно-эозинофильную цитоплазму, ядра сохранены. Архитектоника сосудов соответствует норме. Эндотелий сосудов портального тракта не изменён, желчные протоки выстланы кубическим эпителием. Во всех образцах видны дистрофические изменения гепатоцитов, но периваскулярно заметны островки здоровой ткани. Сосуды полнокровны.

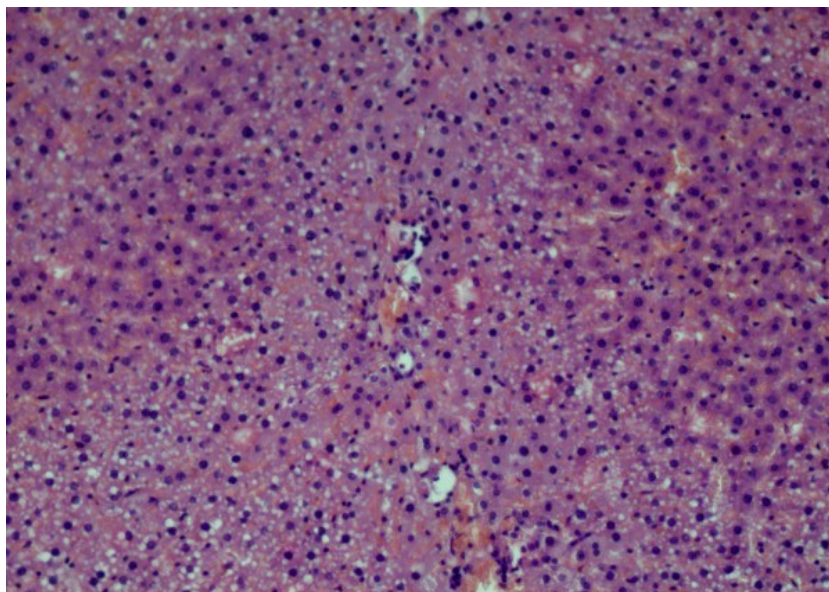


Рисунок 11 – Морфофункциональное строение печени крыс, получавших экстракт володушки в дозе 50 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x 100

Таким образом, оценивая морфологическую структуру печени крыс 3 группы, можно заключить, что володушки золотистой травы экстракт сухой в дозе 50 мг/кг оказывает гепатопротективное действие.

На рисунке 12 представлено, что у животных, получавших экстракт володушки в дозе 100 мг/кг (4 группа) капсула печени состоит из расположенных компактно волокон соединительной ткани. Печеночные балки ориентированы радиарно, дольки сформированы правильно, гепатоциты имеют бледно-эозинофильную цитоплазму, ядра сохранены. Архитектоника сосудов соответствует норме. Эндотелий сосудов портального тракта не изменён, желчные протоки выстланы кубическим эпителием. Дистрофические изменения гепатоцитов заметны во всех образцах, но периваскулярно заметны островки здоровой ткани, они больше, чем в предыдущей группе. Сосуды полнокровны.

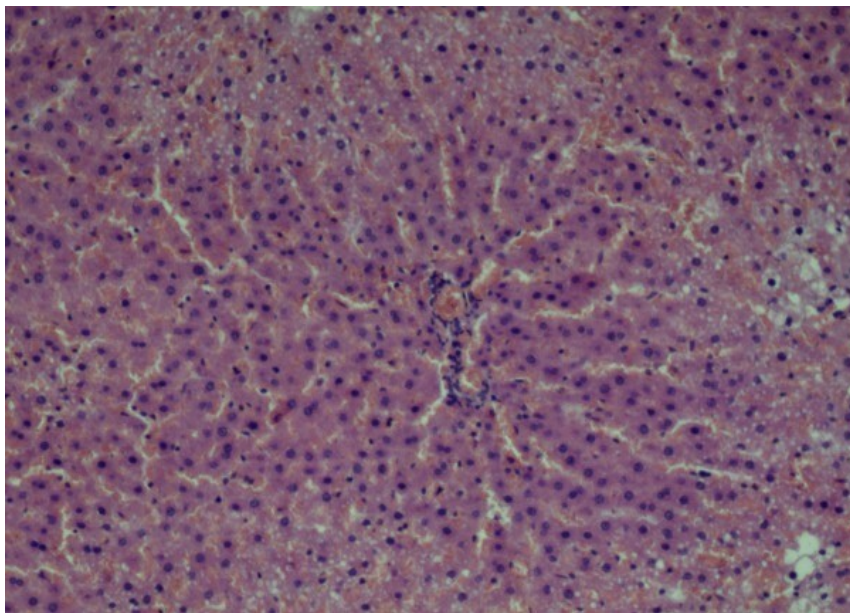


Рисунок 12 – Морфофункциональное строение печени крыс, получавших экстракт володушки в дозе 100 мг/кг. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

При оценке морфологической структуры печени крыс, получавших исследуемый экстракт, можно заключить, что володушки золотистой травы экстракт сухой в дозе 100 мг/кг оказывает более выраженное гепатопротективное действие, чем в дозе 50 мг/кг.

У животных, получавших препарат сравнения силимар в дозе 100мг/кг, капсула печени состоит из расположенных компактно волокон соединительной ткани. Печеночные балки ориентированы радиарно, дольки сформированы правильно, гепатоциты имеют бледно-эозинофильную цитоплазму, ядра сохранены. Архитектоника сосудов соответствует норме. Эндотелий сосудов портального тракта не изменён, желчные протоки выстланы кубическим эпителием. Дистрофические изменения гепатоцитов выявлены во всех образцах, но периваскулярно заметны островки здоровой ткани. Сосуды полнокровны (рисунок 13).

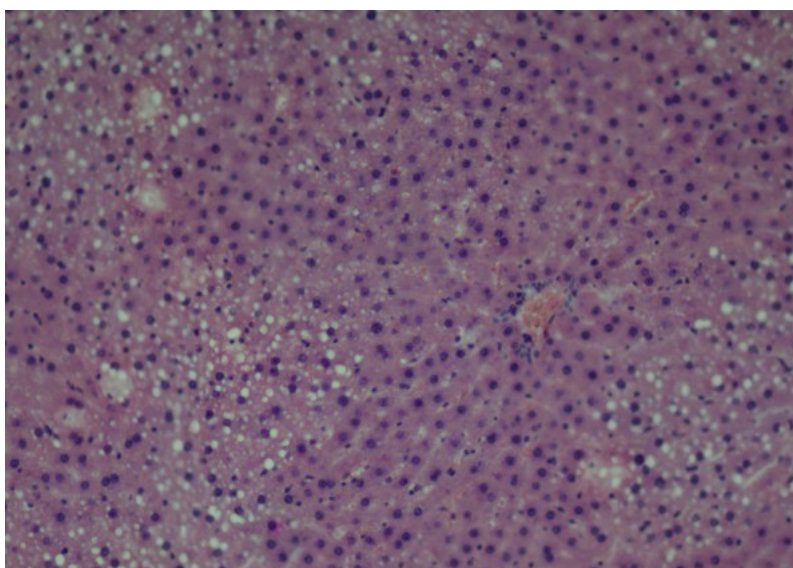


Рисунок 13 – Морфофункциональное строение печени крыс 5 группы. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение x100

В результате оценки морфологической структуры печени крыс, получавших силимар, можно сделать следующее заключение, что силимар в дозе 100 мг/кг проявляет гепатопротективное действие.

Таким образом, володушки золотистой травы экстракт сухой в дозах 50 и 100 мг/кг проявляет гепатопротективное действие. Препарат силимар в дозе 100 мг/кг также оказывает гепатопротективное действие сходное с действием экстракта володушки.

5.2. Изучение гепатопротективной активности володушки золотистой травы экстракта сухого на модели тетрациклинового гепатита

Как известно, тетрациклин относится к средствам с прямым повреждающим действием на печень. В токсическом действии тетрациклина важным является подавление синтеза белка на этапе трансляции и элонгации. По данным литературы прооксидантное действие тетрациклина связано с индуцированием процесса образования свободных радикалов. Они, усиливая свободнорадикальные реакции, способствуют накоплению высокотоксичных продуктов перекисного окисления липидов (гидроперекисей, кетонов, альдегидов и др.) в печени и крови, которые могут быть причиной нарушения структурной целостности мембран гепатоцитов и их органоидов, снижения уровня биоэнергетики различных обменных и синтетических процессов в печени [112, 130].

Модель тетрациклинового гепатита характеризуется гепатотоксическим эффектом, обусловленным подавлением этим антибиотиком выработки транспортных белков, обеспечивающих выведение фосфолипидов из гепатоцита, что приводит к жировой дистрофии печени. Также действие тетрациклина сопровождается деструкцией малых междольковых протоков, приводящей к внутрипечёночному холестазу [15, 17, 117].

В эксперименте были использованы нелинейные крысы самцы массой 180-200 г в количестве 50 особей.

Фармакологические свойства экстракта изучали при его внутрижелудочном введении крысам. Экстракт растворяли в воде очищенной. Подопытные животные были разделены на пять групп по 10 особей: 1-я – интактные животные; 2-я – контрольные животные, с тетрациклиновым гепатитом, которым перед введением тетрациклина три дня давали эквивалентное количество воды очищенной в аналогичном с опытными

группами режиме, внутривенно; 3-я и 4-я группы – опытные, которые получали исследуемый экстракт 3 дня в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг, соответственно; 5-я группа животных получала препарат сравнения силимар в дозе 100 мг/кг, суспендированный в 1% крахмальном геле.

Объект исследования и силимар предварительно вводили 1 раз в сутки в течение 5 дней опытным группам лабораторных животных, в это же время контрольные крысы получали эквивалентный объём воды очищенной. С 6 по 10 сутки эксперимента животным контрольной и опытных групп вводили внутривенно тетрациклин, суспендированный в 1% крахмальном геле в дозе 500 мг/кг. За 1 ч до введения тетрациклина опытные животные получали экстракт володушки (3-я и 4-я опытные группы), силимар (5-я опытная группа), а контрольные животные получали воду очищенную. Затем через 48 ч взяты из хвостовой вены пробы периферической крови для исследования биохимических показателей, получена сыворотка и проведён её биохимический анализ. Изучено влияние экстракта и препарата сравнения на активность ферментов-маркеров морфофункционального состояния печени в сыворотке крови крыс. По окончании экспериментов крыс подвергли эвтаназии в CO₂ камере.

Для установления гепатопротективной активности исследуемого экстракта изучена активность индикаторных ферментов цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ), экскреционного фермента маркера холестаза - щелочной фосфатазы, общего билирубина в условиях экспериментального тетрациклинового гепатита.

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 18.

Введение подопытным животным тетрациклина вызвало выраженное увеличение активности индикаторных ферментов цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ), экскреционного фермента маркера холестаза – щелочной фосфатазы. Также наблюдалось ухудшение общего состояния экспериментальных животных, уменьшение их массы, и снижение двигательной активности по сравнению с интактными крысами.

Таблица 18 – Влияние ВЗТЭС на активность ферментов маркеров морфофункционального состояния печени сыворотки крови крыс на модели тетрациклинового гепатита, ($M \pm m$)

Группы животных, n=10	АЛТ, Е/л	АСТ, Е/л	ЩФ, Е/л	Билирубин общий, мкмоль/л
Интактная	64,06±5,45	89,58±6,42	394,8±3,1	2,68±0,02
Контрольная (Н ₂ О + тетрациклин)	200,10±2,47	198,80±2,11	632,4±3,2	5,04±0,10
1 опытная (ВЗТЭС 50 мг/кг + тетрациклин)	144,44±2,36*	121,40±3,11*	472,2±4,2*	4,2±0,08*
2 опытная (ВЗТЭС 100 мг/кг + тетрациклин)	82,62±1,44*	100,12±2,04*	421,7±1,8*	3,1±0,06*
3 опытная (силимар 100 мг/кг+ тетрациклин)	138,18±3,12*	118,49±1,20*	453,4±7,1*	3,24±0,11*

Как видно из данных, приведенных в таблице 18, введение лабораторным животным ВЗТЭС в дозе 50 мг/кг на фоне тетрациклинового гепатита снижало активность АЛТ на 28%, в дозе 100 мг/кг – на 59%, введение животным

силимара в дозе 100 мг/кг – на 31%. Экстракт в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг уменьшал активность АСТ на 39% и 50% соответственно, в то время как силимар в дозе 100 мг/кг – на 40%. Активность щелочной фосфатазы экстракт в дозе 50 мг/кг снижал на 25%, в дозе 100 мг/кг – на 33%, а силимар – 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%, препарат сравнения силимар снижал содержание общего билирубина на 25%.

Данные проведенных исследований свидетельствуют о выраженной гепатопротективной активности ВЗТЭС.

Таким образом, экспериментально установлено, что изучаемый экстракт в условиях моделирования тетрациклинового гепатита у крыс обладает гепатопротективными свойствами в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг. Гепатопротективный эффект ВЗТЭС превосходит эффект силимара в аналогичной дозе.

Исследования ВЗТЭС в условиях экспериментальных поражений печени показали, что изучаемый экстракт в экспериментально-терапевтических дозах оказывает выраженное положительное влияние на функциональную активность гепатоцитов, усиление регенераторных процессов на фоне его применения, снижает биохимические признаки цитолиза и холестаза. Установлено активирующее действие экстракта володушки на ферменты микросомальной системы детоксикации печени крыс цитохром P₄₅₀ и глутатионтрансферазу.

Гепатопротективное влияние исследуемого экстракта базируется на его антиоксидантных, антирадикальных, мембраностабилизирующих свойствах со снижением степени выраженности патогенетических синдромов повреждения печени: цитолиза, холестаза, воспалительной реакции [43].

Полученные результаты исследований свидетельствуют о перспективности володушки золотистой травы экстракта сухого для создания растительного лекарственного средства для профилактики и лечения заболеваний органов пищеварения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы во многих странах отмечается рост частоты гастроэнтерологических заболеваний, связанный с неблагоприятной экологической обстановкой, нерациональным питанием и др. [62]. К числу наиболее распространенных заболеваний пищеварительной системы относятся язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, а также заболевания гепатобилиарной системы, в том числе гепатиты [49].

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 [141]. 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.

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 изучаемый экстракт относится к группе «практически нетоксичные вещества» по действующей классификации. Экстракт 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.

Помимо этого, нами экспериментально установлено, что володушки золотистой травы экстракт сухой в условиях модели тетрахлорметанового гепатита у крыс обладает детоксицирующими и гепатопротективными свойствами. При введении ВЗТЭС снижалась активность АЛТ и АСТ – маркеров синдрома цитолиза, билирубина, а также существенно уменьшалась активность щелочной фосфатазы – маркера синдрома холестаза. Морфологические исследования свидетельствуют об ограничении развития дистрофических и некротических процессов, уменьшении количества апоптотически измененных гепатоцитов, снижении интенсивности лимфогистиоцитарной инфильтрации и восстановлении структуры органа.

Данный экстракт в условиях модели тетрациклинового гепатита у крыс также обладает гепатопротективными свойствами. ВЗТЭС при тетрациклиновом гепатите снижает активность индикаторных ферментов цитолитического

синдрома (АЛТ, АСТ), экскреционного фермента маркера холестаза - щелочной фосфатазы.

Выявленное противовоспалительное, гастропротективное, гепатопротективное действие ВЗТЭС обусловлено содержанием в нем фенольных соединений, в частности, кумаринов, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот, обладающих антиоксидантной, противовоспалительной активностью [119, 150, 154, 165, 170, 181].

Известно, что фенольные соединения улучшают микроциркуляцию тканей, тем самым повышают метаболическую активность клеток покровно-эпителиального пласта, их способность противостоять различным факторам язвеногенеза, 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 [51, 144, 185].

Феруловая и кофейная кислоты также обладают мощным антиоксидантным действием - торможением процессов перекисного окисления липидов в биомембранах, а также влиянием на активность мембраносвязанных ферментов, ингибированием свободнорадикальных стадий синтеза простагландинов и лейкотриенов, катализируемых циклооксигеназой и липооксигеназой, а также посредством блокирования специфических рецепторов медиаторов воспаления [198].

Лютеолин обладает выраженной противовоспалительной активностью за счет ингибирования циклооксигеназы-2, а также снижает уровень провоспалительных цитокинов (ИЛ-1б и ФНО-а) [166].

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. Биологически активные вещества, входящие в состав данного

экстракта, стимулируя активность антиоксидантных ферментов, восстанавливая клеточные и субклеточные мембраны, взаимодействуя со свободными радикалами, способны прямо или косвенно ингибировать или предупреждать апоптоз клеток, и, как следствие, ограничивать развитие повреждений органов пищеварения [84].

Особый интерес представляют результаты исследований [84, 175], показавших мембраностабилизирующее действие растительных фенольных соединений при повреждениях желудка и гепатобилиарной системы, что соответствует данным, полученным в проведенных экспериментах.

Таким образом, на экспериментальных моделях воспалений, повреждений желудка и печени у лабораторных животных установлено достоверно выраженное противовоспалительное, противоязвенное и гепатопротективное действие ВЗТЭС.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Володушки золотистой (*Bupleurum 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 ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абрамчук, А. В. Лекарственные растения Урала / А. В. Абрамчук, Г. Г. Карташева. – Екатеринбург, 2010. – 510 с.
2. Авдеев, В.Г. Методы определения концентрации белка / В.Г. Авдеев // Вопросы медицинской химии. – 1977. – № 4. – С. 562-571.
3. Ареалы лекарственных и родственных растений СССР / Под. ред. В.М. Шмидта – Л. Изд-во ЛГУ, 1990. – С. 68-70.
4. Арзамасцев, Е.В. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Е.В. Арзамасцев, Т.А. Гуськова, И.В. Березовская и др.– М., 2005. – С. 41-54.
5. Аруин, Л.И. Качество заживления гастродуоденальных язв: функциональная морфология, роль методов патогенетической терапии / Л.И. Аруин // Сучасна гастроентерологія. – 2013. – Т. 73, № 5. – С. 92-103.
6. Афанасьева, Т.Г. Динамика основных показателей отечественного рынка официальных растительных препаратов в первом десятилетии XXI века / Т.Г. Афанасьева, Н.Б. Дремова, Т.Л. Киселева // Традиционная медицина. – 2013. – № 3 (34). – С. 28-35.
7. Афанасьева, Т.Г. Ситуационный анализ сегмента отечественного рынка лекарственных растительных препаратов в 2013 году / Т.Г. Афанасьева, Н.Б. Дремова, Т.Л. Киселева // Традиционная медицина. – 2013. – № 4 (34). – С. 33-38.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Баширова, Р.М. Володушка золотистая местный источник гепатопротекторных и капилляроукрепляющих веществ. Природные факторы здоровья, профилактики и лечения болезней / Р.М. Баширова, Ю.И. Усманов // Сб. докладов республиканской межведомственной научно-практ. конференции. Уфа, РИО ГУП «Иммунопрепарат» – 2001. – С. 38-42.
13. Баширова, Р.М. Растения рода володушка *Vipuleurum* L. перспективное сырье для гепатопротекторных и иммуностимулирующих препаратов / Р.М. Баширова, А.М. Мингажева, И.В. Галяутдинов, В.Н. Одинокоев // Вестник АН РБ. – 2003. – Т. 8. – № 3. – С. 12-14.
14. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / 2-е изд., перераб. и доп. – Ленинград, Медгиз, 1963. – 146 с.
15. Белоусов, Ю.Б. Общая и частная клиническая фармакокинетика / Ю.Б. Белоусов – М. Ремедиум, 2006. – 807 с.
16. Березовская, И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. / И.В. Березовская // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – 37(3): – С. 32-34.

17. Болезни печени и желчевыводящих путей. Руководство для врачей / под редакцией В.Т. Ивашкина. – М.: ООО «Издательский дом «М-Вести», 2002. –416 с.
18. Борисов, Ю.Ю. Структурно-механические характеристики слизистого барьера желудка при язвенной болезни / Ю.Ю. Борисов // Научный медицинский вестник. – 2017. – Т.7, № 1. – С. 37-42.
19. Боровиков, В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA / В.П. Боровиков. – М.: Горячая линия. Телеком, 2014. – 288 с.
20. Бурлакова, Е.Б. О возможной роли свободнорадикального механизма в регуляции размножения клеток / Е.Б. Бурлакова // Биофизика. – 1967. – Т.12. – № 1. – С. 82-88.
21. Вайс, Р.Ф. Фитотерапия. Руководство: пер. с нем. / Р.Ф. Вайс, Ф. Финтельманн. – М. Медицина, 2004. – 552 с.
22. Валенкевич, Л.Н. Болезни органов пищеварения. Руководство по гастроэнтерологии для врачей. / Л.Н. Валенкевич, О.И. Яхонтова. – СПб, 2006. – 656 с.
23. Васфилова, Е.С. Некоторые перспективные лекарственные растения в условиях интродукции на Среднем Урале. / Е.С. Васфилова // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2020. – № 4 (56). – С. 26-32.
24. Вахрушев, Я.М. Внутренние болезни / Я.М. Вахрушев. – Ижевск Экспертиза, 2000. – 562 с.
25. Венгеровский, А.И. Доклиническое изучение гепатозащитных средств / Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. // Ведомости Фармакологического комитета. – 1999. – № 2. – С. 9-12.
26. Венгеровский, А.И. Механизмы действия гепатопротекторов при токсических поражениях печени / А.И. Венгеровский, А.С. Саратиков // Фармакология и токсикология. – 1988. – № 1. – С. 89-93.

27. Висмонт, Ф.И. Воспаление (патофизиологические аспекты): уч. метод. Пособие / Ф.И. Висмонт. – Мн. БГМУ, 2006 – 48 с.
28. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков, Г.М. Франк. – М. Наука, 1972. – 252 с.
29. Вогралик, В.Е. Володушка как новое желчегонное растение. Новые лекарственные растения Сибири, их лечебные препараты и применение. / В.Е. Вогралик, Э.Э. Кристер, С.В. Виленчик // Томск, 1946. – Вып.2, – С.102-104.
30. Волхонская, Т.А. Изучение флавоноидов рода *Vupleurum* L. Западной Сибири. Автореф. дисс. кандидата биол. наук / Т.А. Волхонская – Томск, 1968. – С. 19.
31. Волхонская, Т.А. К идентификации флавонолов Володушки многожилчатой / Т.А. Волхонская. Эколого-морфологические и биохимические особенности полезных растений дикорастущей флоры Сибири. Новосибирск, 1970 – С. 247-248.
32. Вышковский, Г.Л. Регистр лекарственных средств. Энциклопедия лекарств. / Г.Л. Вышковский – Москва: РЛС, 2008. –1440 с.
33. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение / под ред. А.В. Калинина, А.И. Хазанова. – М., 2006. – 602 с.
34. Гасымова, Ш.А. Изучение химического состава жирного масла из семян *Silybum Marianum* (L.) Gaertn. / Ш.А. Гасымова, Э.Н. Новрузов, Н.П. Мехтиева // Химия растительного сырья. – 2017. – № 3. – С. 107-110.
35. Голиков, С.Н. Общие механизмы токсического действия / С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов. – Л., 1989. – 280с.
36. Голяна, В.И. Роль витаминов А и Е в патогенезе и терапии болезни Боткина. Автореферат диссертации кандидата медицинских наук. / В.И. Голяна. – М., 1977. – 21 с.
37. Горбалева, Г.Н. Биологические особенности некоторых сибирских видов рода *Vupleurum* L. / Г.Н. Горбалева, А.И. Якубова // Совещание по вопросам

- изучения и освоения растительных ресурсов СССР. Новосибирск. – 1968. – С. 57-58.
38. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронный ресурс]. – 2022. – URL: <https://resource.rucml.ru/femb/pharmacopea.php>
39. Грабер, М.А. Руководство по семейной медицине (пер. с англ.) / М.А. Грабер, М.Л. Лантернер. – М., 2002. – 752 с.
40. Григорьев, П.Я. Клиническая гастроэнтерология - 3-е изд., перераб. и доп. / П.Я. Григорьев, А.В. Яковенко – М.: Медицинское информационное агентство, 2004. – 768 с.
41. Григорьев, П.Я. Профилактика и лечение болезней органов пищеварения / П.Я. Григорьев, А.В. Яковенко – М., 2003 – 128 с.
42. Дадали, В.А. Окислительный стресс в структуре адаптационных реакций организма / В.А. Дадали // Медицинская психология в России: электронный научный журнал [Электронный ресурс]. – 2012. – № 3 (14). –Режим доступа: <http://medpsy.ru>.
43. Джавахян, М.А. Теоретические и экспериментальные аспекты создания лекарственных препаратов с субстанциями растительного происхождения в мягких лекарственных формах Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук // М.А. Джавахян – Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет. – Санкт-Петербург, 2018 – 309 с.
44. Дьяконова, Л.Н. Выделение гликозида флавоноловой группы из листьев Володушки золотистой и его химическое исследование / Л.Н. Дьяконова // Аптечное дело, 1960. – № 6. – С. 12-15.
45. Дьяконова, Л.Н. Химико-фармакологические исследования володушки золотистой. / Дьяконова Л.Н., Лапик А.С. // Новые лекарственные растения Сибири, их лечебные препараты и применение. Томск Изд-во Томского ун-та, 1959. – Вып. 5 – С. 50-52.

46. Дьяконова, Л.Н. Химическое исследование Володушки золотистой и Володушки козелецелистной / Л.Н. Дьяконова // Новые лекарственные растения Сибири – Томск, 1953. – Вып. 4. – С. 116-123.
47. Еремина, Е.Ю. Системные проявления болезней органов пищеварения / Е.Ю. Еремина, Е.И. Ткаченко. – Саранск, 2000. – 200 с.
48. Жигаев, Г.Ф. Хроническое нарушение дуоденальной проходимости в патологии органов гастропанкреатодуоденальной зоны; хирургическая коррекция / Г.Ф. Жигаев, А.Л. Кросс, В.М. Кузнецов и др. // Вестник БГУ, сер. Медицина. – 2002. – Вып. 1, часть 2. – С. 14-35.
49. Заболеваемость населения Российской Федерации. URL: www.mednet.ru/statistica/zabolevaemost-naseleniya.html (дата обращения: 06.10.2022).
50. Запрометов, М.Н. Фенольные соединения. Распространение, метаболизм и функции в растениях / М.Н. Запрометов. – М. Наука, 1994, 272 с.
51. Земцова, Г.Н. Флавоноиды как лекарственные препараты / Г.Н. Земцова, В.А. Бандюкова // Фармация. – 1982. – № 3 – С. 68-70.
52. Зенков, Н.К. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньшикова, Н.Н. Вольский и др. // Успехи современной биологии. – 1999. – Вып.5. – С. 439-449.
53. Зенков, Н.К. Окислительный стресс: биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова. – М. МАИК «Наука Интерпериодика», 2001. – 343 с.
54. Зыкова, И.Д. Компонентный состав эфирного масла надземной части Володушки золотистой Сибирского региона. / И.Д. Зыкова, А.А. Ефремов // В сборнике: Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. Материалы V Всероссийской конференции с международным участием. – 2012. – С. 220-221.

55. Зыкова, И.Д. *Bupleurum aureum* (Apiaceae): компонентный состав эфирного масла стеблей, цветков и листьев. / И.Д. Зыкова, Л.В. Наймушина // Вестник Крас ГАУ. – 2016. – № 9 (120). – С. 95-100.
56. Ибрагимова, В.С. Китайская медицина. Методы диагностики и лечения. Лекарственные средства. Чжень-цзю терапия. / В.С. Ибрагимова. – М.: «АНТАРЕС», 1994. – 637 с.
57. Иваненкова, Р.А. Нейрогуморальная регуляция процессов желчеобразования и желчевыделения / Р.А. Иваненкова // Клиническая медицина. 1986. – № 4. – С. 24-31.
58. Ивашкин, В.Т. Гастроэнтерология: национальное руководство / В.Т. Ивашкин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 704 с.
59. Ивашкин, В.Т. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению язвенной болезни / В.Т. Ивашкин, А.А. Шептулин, И.В. Маев, и др. // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2016. – № 26 (6). – С. 40-54.
60. Израильсон, В.Ф. Володушка золотистая – перспективный источник для получения Р-витаминного препарата / В.Ф. Израильсон, Т.А. Волхонская // Результаты и перспективы научных исследований в области создания лекарственных средств из растительного сырья. – М. Наука, 1985. – С.247-248.
61. Инфекционные болезни: национальное руководство / Под ред. Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 872 с.
62. Калагина Ю.С. Патология органов пищеварения при вирусных гепатитах // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2012. – Т. 91. – № 4. – С. 132-135.
63. Калюжная, О.А. Оценка отдаленных результатов лечения пациентов с язвенной болезнью желудка / О.А. Калюжная, Р.Р. Тухватшин // Инновационная наука. – 2016. – № 7-8. – С. 118-120.
64. Канунникова, Ю.С. Фармакогностическое изучение и стандартизация травы и экстракта сухого володушки золотистой (*Bupleurum aureum* FISCH.).

Автореферат дис. кандидата фармацевтических наук // Ю.С. Канунникова – Всерос. науч.-исслед. ин-т лекарствен. и ароматич. растений (ВИЛАР) РАСХН. – Москва, 2014 – 181 с.

65. Карузина, И.И. Выделение и свойства цитохрома P₄₅₀ из микросом печени кроликов / И.И. Карузина, Г.И. Бачманова, Д.Э. Менгазетдинов, К.Н. Мясоедова, В.О. Жихарева, Г.И. Кузнецова, А.И. Арчаков // Биохимия. – 1979. – № 6. – С. 1049-1057.

66. Киселева, Т.Л. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Применение терминов натуротерапии и натурофармации в практическом здравоохранении / Т.Л. Киселева, А.А. Карпеев // Методические рекомендации № 2000/154, утв. 01.11.2000 г. – М. Изд-во НПЦ ТМГ МЗ РФ, 2000. – 46 с.

67. Колобов, С.В. Гастроиммунотерапия / С.В. Колобов, И.В. Ярема. – М., 2001. – 176 с.

68. Комаров, Ф.И. Диагностика и лечение внутренних болезней / Ф.И. Комаров, А.И. Хазанов, А.В. Калинин и др. – М., 1999. – Т. 3. – 528 с.

69. Краснюк, И.И. (мл.) Аспекты применения индометацина в медицине и фармации / И.И. Краснюк (мл.), Т.М. Кошелева, А.В. Беляцкая и соавт. // Вестник Российской академии медицинских наук. 2018. – Т. 73. – № 2. – С. 130-134.

70. Кривенчук, П.Е. Полифенольные и тритерпеновые соединения нового желчегонного препарата Пекворина / П.Е. Кривенчук, И.А. Пасечник, А.И. Тихонов и др. // Материалы III Всероссийского съезда фармакологов. – Свердловск, 1975. – С. 301-302.

71. Кукес, В.Г. Клиническая фармакология и фармакотерапия / В.Г. Кукес, А.К. Стародубцев, Е.В. Ших – М.: Издательская группа «Геотар – Медиа», 2020. – 873 с.

72. Курилович, С.А., Иммунологический анализ наследственной предрасположенности к дуоденальной язве / С.А. Курилович, Л.Г. Шлыкова,

- В.И. Коненков // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 1999. – № 5. – С. 31.
73. Куркин, В.А. Сравнительное исследование антиоксидантной активности некоторых флавоноидов и гепатопротекторных лекарственных препаратов на основе плодов расторопши пятнистой. / В.А. Куркин, Е.В. Авдеева, О.Е. Правдивцева, А.В. Куркина, В.М. Рыжов, Д.В. Росихин, А.И. Агапов, О.Л. Кулагин // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 203.
74. Кучеров. Е.В. *Vupleurum longifolium* L. в Башкирии и содержание флавоноидов в ее надземных органах / Е.В. Кучеров, В.С. Никитина, О.Э. Оразов, А.А. Мулдашев, А.Х. Галеева // Растительные ресурсы. – 1993. – Вып.4. – С.71-75.
75. Ланг, Т.А. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т.А. Ланг, М. Сесик. – М.: Практическая Медицина. – 2011. – 480 с.
76. Лапик, А.С. К фармакологии володушки и пижмы как новых желчегонных средств растительного происхождения / А.С. Лапик // Новые лекарственные растения Сибири, их лечебные препараты и их применение. – Томск, 1953. – Вып. 4. – С. 128-137.
77. Лапина, Т.Л. Возможности лекарственного воздействия на цитопротективные свойства гастродуоденальной слизистой оболочки / Т.Л. Лапина // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2006. – № 5. – С. 75-80.
78. Лапина, Т.Л. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки / Т.Л. Лапина // *Consilium medicum*. – 2002. – С. 20.
79. Левицкий, А.П. Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология / А.П. Левицкий, Е.К. Вертикова, И.А. Селиванская // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2010. – № 2. – С. 6-20.

80. Лившиц, Н.С. Фармакологические свойства Р-витаминных препаратов из Володушки: дисс. кандидата биологических наук / Н.С. Лившиц – Томск, 1989. – 123 с.
81. Логинов, А.С. Язвенная болезнь и *Helicobacter Pylori*. Новые аспекты патогенетической терапии / А.С. Логинов, Л.И. Аурич, А.А. Ильченко – М., 1993. – 230 с.
82. Лубсандоржиева, П.-Н.Б. Разработка и стандартизация фитосредств для лечения и профилактики заболеваний органов пищеварения / П.-Н.Б. Лубсандоржиева. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2016. – 280 с.
83. 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.
84. Луценко, С.В. Растительные флаволигнаны. Биологическая активность и терапевтический потенциал / С.В. Луценко, Н.Б. Фельдман, Е.В. Луценко и др. – Москва, 2016. – 236 с.
85. Маев, И.В. Болезни желудка / И.В. Маев, А.А. Самсонов, Д.Н. Андреев // М. ГЭОТАР-Медиа. – 2015. – 967 с.
86. Махакова, Г.Ч. Фармакологическая регуляция свободнорадикальных процессов при язвенной болезни / Г.Ч. Махакова, В.А. Орлов, С.М. Николаев – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2001. – 193 с.
87. Махмутов, Б.Б. Антирадикальное и мембранотропное действия кверцетина и его комплекса с алюминием / Б.Б.Махмутов, Б.С. Абдрасилов, Ю.А. Ким // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2022. – № 7. – С. 83-88.
88. Меерсон, Ф.З. Предупреждение стрессовых повреждений и повышение выносливости организма к физической нагрузке с помощью физических факторов / Ф.З. Меерсон // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1994. – № 1. – С. 11-19.

89. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков. – М. Слово, 2006. – 556 с.
90. Мизина, П.Г. Растительные и минеральные биологически активные комплексы для медицинских технологий здоровьесбережения / П.Г. Мизина. Наука, 2021. – 164 с.
91. Минаева, В.Г. Володушка – *Vipuleurum* L. Лекарственные растения Сибири / В.Г. Минаева – Новосибирск. Наука, 1991 – С. 269-271.
92. Минаева, В.Г. Володушка золотистая / В.Г. Минаева, Т.А. Волхонская, А.Г. Валущкая // Растительные ресурсы. – 1985. – Т. 21. – Вып. 2. – С. 233-235.
93. Минаева, В.Г. К изучению накопления флавоноидных веществ в Володушке многожилчатой / В.Г. Минаева // Тезисы докладов конференции по изучению и освоению растительных ресурсов Сибири и Дальнего Востока. – Новосибирск. Изд-во Сибирского отделения АН СССР, 1961. – С. 113-118.
94. Минаева, В.Г. Сравнительное изучение флавоноидного состава некоторых сибирских видов володушки / В.Г. Минаева, Т.А. Волхонская, А.Г. Валущкая // Растительные ресурсы. – 1965. – Т. 1 – .Вып. 2. – С. 233-235.
95. Минаева, В.Г. Флавоноиды володушки многожилчатой *Vipuleurum multinerve* DC. / В.Г. Минаева, Т.А. Волхонская // Докл. АН СССР. – 1964. – Т. 154. – Вып. 4. – С. 956-959.
96. Мингажаева, А.М. Володушка золотистая *Vipuleurum longifolium* L. subsp. *aureum* (Fisch.) Soo в Предуралье (особенности, перспективы интродукции и биохимический состав). дисс. канд. биол. наук: 06.01.13 / Мингажаева Альфия Муратовна. – Москва. – 2006. – С. 147.
97. Мингажаева, А.М. Опыт введения Володушки золотистой в культуру / А.М. Мингажаева, В.А. Ложкин // Итоги биол. исследований Башкирского гос. университета. – 2002. – С. 220-223.
98. Мингажаева, А.М. Растения рода *Vipuleurum*: рекомендации по введению в культуру / А.М. Мингажаева, Р.М. Баширова, Ю.И. Усманов // Издание Башк. ун-та. – 2002. – 28 с.

99. Минушкин, О.Н. Гепатопротекторы растительного происхождения в терапии лекарственного гепатита. / О.Н. Минушкин, И.В. Зверков, А.И. Островская // Медицинский совет. – 2016. – № 14. – С. 48-51.
100. Мирецкая, Т.И. Влияние володушки золотистой на секреторную и эвакуаторную функцию желудка / Т.И. Мирецкая // Новые лекарственные растения Сибири и их лечебные препараты. – Томск, 1946. – Вып. 2. – С. 105-109.
101. Митрофанова, И.Ю. Методологические основы выбора растительных объектов в качестве источников фитопрепаратов // И.Ю. Митрофанова, А.В. Яницкая, Д.В. Бутенко // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 20 (2). – С. 405-408.
102. Михайлова, Е.В. Влияние концентрации ионов водорода, магния и марганца на активность митохондриальной НАД-маладегидрогеназы из гепатоцитов крысы при токсическом гепатите / Е.В. Михайлова, Т.Н. Попова, О.А. Сафонова // Микроэлементы в медицине. – 2008. – № 1-2. – С. 22-26.
103. Михайлова, С.И. Эколого-биологические особенности перспективных в медицине и редких видов рода *Vipuleurum* L. В северо-западной части Алтае-Саянской горной области. дисс. кандидата биологических наук. / С.И. Михайлова – Томск, 1993. – 221 с.
104. Мустафина, М.К. Влияние фитопрепаратов на процессы свободнорадикального окисления в организме экспериментальных животных в норме и в условиях стресса: дисс. кандидата биологических наук. / М.К. Мустафина – Уфа, 2002. – 125 с.
105. Мышкин, В.А. Окислительный стресс и повреждение печени при химических воздействиях / В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров. – Уфа, 2010. – 176 с.
106. Нехода, М.Ф. Володушка золотистая как желчегонное средство: дисс. кандидата биологических наук / М.Ф. Нехода – Томск, 1962. – 169 с.

107. Нехода, М.Ф. О желчегонном действии экстрактов Володушки золотистой / М.Ф. Нехода // Новые лекарственные растения Сибири, их лечебные препараты и применение. – 1969. – Вып. 5. – С. 134-136.
108. Николаев, С.М. Влияние фитосредств на состояние гуморального звена иммунного ответа / С.М. Николаев, В.Б. Хобракова, Л.Б. Бураева // Вестник БГУ, сер. Медицина. – 2002. – Вып. 2. – С. 34-37.
109. Николаев, С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний / С.М. Николаев. – Улан-Удэ: Изд-во БГУ, 2012. – 286 с.
110. Новиков, В.Е. Гастропатия, индуцированная нестероидными противовоспалительными препаратами, и её профилактика / В.Е. Новиков, О.Н. Крюкова, А.В. Крюкова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 5. – С. 69-72.
111. Оболенцева, Г.В. К механизму ulcerогенного действия нестероидных противовоспалительных средств / Г. В. Оболенцева, С.В. Гладченко, И. Г. Бутенко // Актуальные вопросы клинической фармакологии. Тезисы докладов XV конференции по клинической фармакологии с международным участием. – Волгоград, 1990. – С. 96-97.
112. Овсянникова, Л.М. О механизме прооксидантного действия тетрациклина / Л.М. Овсянникова // Антибиотики. – 1983. – № 11. – С. 845-848.
113. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство: Монография / Под ред. О.Г. Хурцилавы, Н.Н. Плужникова, Я.А. Накатиса — СПб. Издательство СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012. – 340 с.
114. Официальный сайт Федеральной службы государственной статистики – [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/healthcare/ 2022.
115. Патент 2568586 Российская Федерация, МПК А61К 36/233, В01D 11/02 Способ получения экстракта володушки золотистой / Джавахян М.А., Канунникова Ю.С.; заявители и патентообладатель Джавахян М.А.,

Канунникова Ю.С. – № 2014122799/15, заявл. 05.06.2014, опубли. 20.11.2015. – Бюл. № 32.

116. Патент 2637644 Российская Федерация, МПК А61К 36/233; В01D 11/02; А61Р 1/04. Лекарственное средство, обладающее гастропротективной (противоязвенной активностью) / Ферубко Е.В. [и др.]; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «Всерос. науч.-исследоват. ин-т лекарств. и ароматич. растений» – № 2016151233; заявл. 26.12.2016; опубли. 05.12.2017. – Бюл № 34.

117. Полунина, Т.Е. Медикаментозные гепатиты / Т.Е. Полунина, И.В. Маев – Фарматека, 2006. –127 с.

118. Полянских, Л.С. Экспериментальные модели патологии печени / Л.С. Полянских, М.А Петросян, Н.В. Жесткова, Н.Н. Балашова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – № 2 – С 41.

119. Потапова, А.А. Изучение мембраностабилизирующего и антиоксидантного действия байкалина / А.А. Потапова, Е.Г. Доркина, Е.О. Сергеева и др. // Современная наука и инновации. – 2016. – № 1. – С. 148-152. (83 С)

120. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование. Семейства *Rutaceae* – *Elaeagnaceae*. Ответственный редактор Соколов П.Д. / Ленинград Изд. Наука, 1988. – С.86-92.

121. Роговский, В.С. Антигипертензивная и нейропротекторная активность кверцетина и его производных / В.С. Роговский, Н.Л. Шимановский, А.И. Матюшин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т.75, № 9. – С. 37-41.

122. Род *Vipuleurum* L. – Володушка Ареалы лекарственных и родственных им растений СССР (Атлас) / под. Ред. Шмидта В.М., Л. Изд-во Ленингр. ун-та, 1983. – С. 65-68.

123. Руководство по гастроэнтерологии / Под ред. Ф.И. Комарова, С.И. Рапопорта – М. Медицинское информационное агентство, 2010. – 864 с.

124. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
125. Самбукова, Т.В. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т.В. Самбукова, Б.В. Овчинников, В.П. Ганапольский и др. // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 56-63.
126. Сапарклычева, С.Е. Лекарственные растения флоры Среднего Урала, обладающие желчегонным действием / С.Е. Сапарклычева, В.В. Чулкова // Вестник биотехнологии. – 2020. – № 2 (23). – С. 15.
127. Саратиков, А.С. Действие экстракта Володушки золотистой на углеводно-фосфорный обмен в печени / А.С. Саратиков, Л.Н. Лаврентьева, М.Ф. Нехода // Новые лекарственные растения Сибири. – 1959. – Вып. 5, – С. 137-140.
128. Саратиков, А.С. К фармакологии густого экстракта Володушки золотистой / А.С. Саратиков, Е.И. Клейтман, М.Ф. Нехода // Новые лекарственные растения Сибири, их лечебные препараты и применение. – 1959. – Вып. 5 – С. 141.
129. Серов, В.В. Воспаление. / В.В. Серов, В.С. Пауков. – М., Медицина, 1995. – 640 с.
130. Скакун, Н.П. Тетрациклиновые поражения печени и их лечение Обзор литературы / Н.П. Скакун, А.Н. Олейник // Врач. дело. – 1984. – № 11. – С. 91-95.
131. Скворцов, В.В. Лансопразол в терапии язвенной болезни двенадцатиперстной кишки / В.В. Скворцов, О.В. Фатеева, Е.М. Скворцова // Медицинский совет. – 2019. – № 3. – С. 125-129.
132. Скворцов, В.В. Современные ингибиторы протонной помпы в лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / В.В. Скворцов, У.А. Халилова // Поликлиника. – 2015. – № 1. – С. 41-45.
133. Соболевская, К.А. Володушки Западной Сибири как источник биофлавоноидов / К.А. Соболевская, Т.А. Волхонская, В.Г. Минаева // Полезные растения природной флоры Сибири. – Новосибирск. Наука. Сиб. отделение, 1967. – С. 92-98.

134. Стратегия ВОЗ в области народной медицины: 2014-2023 годы. Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2013 г. (<http://apps.who.int/iris/handle/10665/92455>, по состоянию на 27 ноября 2013 г.).
135. Тарабукина, С.М. Исследование ассортимента лекарственных растений и лекарственного растительного сырья в аптечных организациях республики Саха (Якутия) / С.М. Тарабукина, Н.Б. Дрёмова, Т.Л. Киселева, С.В. Соломка // Традиционная медицина. – 2021. – № 1 (64). – С. 19-32.
136. Тихомирова, Г.И. Научное обоснование концептуально-организационных подходов к реабилитации больных с патологией органов пищеварения: автореферат диссертации доктора медицинских наук: 14.02.03 // Г.И. Тихомирова – М., 2013. – 48 с.
137. Тринус, Ф.Н. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ / Ф.Н. Тринус. – Киев. 1974. – 28 с.
138. Тринус, Ф.Н. Нестероидные противовоспалительные средства / Ф.Н. Тринус, Н.А. Мохорт, Б.М. Калёбанов – Киев. 1975. – 239 с.
139. Фархутдинов, Р.Р. Свободнорадикальное окисление: мифы и реальность / Р.Р. Фархутдинов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2006. – Т. 1. – № 1. – С. 146-152.
140. Ферубко, Е.В. Лекарственные препараты растительного происхождения для профилактики и лечения заболеваний органов пищеварения / Е.В. Ферубко, Т.Д. Рендюк, К.А. Пупыкина [и др.]. – М.: ООО «РК-САЛЮТ», 2020. – 210 с.
141. Ферубко, Е.В. Оценка антиоксидантной активности растительных средств. / Ферубко Е.В., Зеленков В.Н., Лапин А.А., Даргаева Т.Д. // Химия растительного сырья. – 2020. – № 4. – С. 187-193.
142. Циммерман, Я.С. Нерешенные и спорные проблемы современной гастроэнтерологии / Я.С. Циммерман. – М. МЕДпресс-информ, 2013. – 224 с.
143. Циммерман, Я.С. Очерки клинической гастроэнтерологии / Я.С. Циммерман. – Пермь, 1992. – 74 с.

144. Шахмарданова, С.А. Антиоксиданты: классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине / С.А. Шахмарданова, О.Н. Гулевская, В.В. Селецкая // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2016. – № 3. – С. 4-15.
145. Шептулин, А.А. Алгоритм лечения больных язвенной болезнью / А.А. Шептулин, Д.Р. Хакимова // Русский Медицинский Журнал. – 2003. – Т. 11. – №2. – С. 18-26.
146. Шостак, Н.А. Нестероидные противовоспалительные препараты - современные аспекты их применения / Н.А. Шостак, А.А. Клименко // Клиницист. – 2013. – № 3-4. – С. 53-61.
147. Эльштейн, Н.В. Ошибки в гастроэнтерологической практике / Н.В. Эльштейн. – М., – 1998. – 224 с.
148. Яковенко, Э.П. Эрозивно-язвенные поражения желудка и двенадцатиперстной кишки. Патогенетические подходы к терапии / Э.П. Яковенко // Лекции для практикующих врачей. – М.: Русский врач, 2012. – С. 253-264.
149. Akanksha, P. A detailed review on: recent advances, pathophysiological studies and mechanism of peptic ulcer / P. Akanksha, S. Nikita, W. Pranay, et al. // Research journal of pharmacology and pharmacodynamics. – 2019. – Vol. 11, № 4. – P. 165-170.
150. Akram, M. Anti-coagulant activity of plants: mini review / M. Akram, A. Rashid // Journal thromb thrombolysis. – 2017. – № 44. – P. 406-411.
151. Al-Majedy, Y. Antioxidant activity of coumarins / Y. Al-Majedy, A. AlAmiery, A.A. Kadhum, A.B. Mohamad // Systematic reviews in pharmacy. – 2017. – Vol. 8, №1. – P. 24-30.
152. Alok, S. Herbal antioxidant in clinical practice: a review / S. Alok, S.K. Jain, A. Verma et al. // Asian Pac. J. Trop. Biomed. – 2014. – Vol. 4. – P. 78-84.

153. Ambriz-Perez D.L. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A review / D.L. Ambriz-Perez, N. Leyva-Lopez et al. // *Cogent Food & Agriculture* – 2016. – Vol. 2. – P. 1-14.
154. Barot, K.P. Recent advances and therapeutic journey of coumarins: current status and perspectives / K.P. Barot, S.V. Jain, L. Kremer, et al. // *Medicinal Chemistry Research*. – 2015. – № 24. – P. 2771-2798.
155. Brattin, W.J. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity / W.J. Brattin, E.A. Glende, R.O. Recnagel // *J. Free Radic. Biol. Med.* – 1985. – Vol. 1. – P. 27-28.
156. Charles, D.J. Antioxidant properties of spices, herbs and other sources (e-book) / D.J. Charles. – Springer; New York Heidelberg Dordrecht London 2013. – 588 p.
157. Chaudière, J. Intracellular Antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms / J. Chaudière, R. Ferrari-Iliou // *Food Chem. Toxicol.* – 1999. – Vol. 37. – P. 949-962.
158. Chiverton, S. G. Relationship between inhibition of acid secretion and healing of peptic ulcers / S. G. Chiverton, R. H. Hunt // *Scand. Journal Gastroenterol.* – 1989. – Vol. 166. – P. 43-47.
159. Cutler, R.G. Critical reviews of oxidative stress and aging. *Advances in Basic Science, Diagnostics and Intervention* / R.G. Cutler, H. Rodriguez – New Jersey, London; Singapore; Hong Kong: World scientific, 2003. – Vol. I. – 822 p.
160. Demling, L. *Gastroenterologie* / L. Demling. – Munchen. – 2000. – 80 s.
161. Froehlicher, T. Phenolic profiles and antioxidative effects of hawthorn cell suspensions, fresh fruits, and medicinal dried parts / T. Froehlicher, T. Hennebelle, F. Martin-Nizard et al. // *Food Chemistry*. – 2009. – Vol. 115. – P. 857-903.
162. Galicia-Moreno, M. The role of oxidative stress in the development of alcoholic liver disease / M. Galicia - Moreno, G. Gutierrez - Reyes / *Revista de Gastroenterologia de Mexico*. – 2014. – Vol. 72. – № 2. – P. 135-144.
163. Germoush, M.O. Umbelliferone prevents oxidative stress, inflammation and hematological alterations, and modulates glutamate-nitric oxide-cGMP signaling in

- hyperammonemic rats / M.O. Germoush, S.I. Othman, M.A. Al-Qaraawi, et al. // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2018. – Vol. 102. – P. 392-402.
164. Gill, S.S. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants / S.S. Gill, N. Tuteja // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2010. – V. 48. – P. 909–930.
165. Grover, J. Coumarins as privileged scaffold for anti-inflammatory drug development / J. Grover, S.M. Jachak // *The Royal Society of Chemistry*. – 2015. – № 5. – P. 38892-38905.
166. Harris, G.K. Luteolin and Chrysin Differentially Inhibit Cyclooxygenase-2 Expression and Scavenge Reactive Oxygen Species but Similarly Inhibit Prostaglandin-E2 Formation in RAW 264.7 Cells / G.K. Harris et al // *J. Nutr.* – 2006. – Vol. 136. – № 6. – P. 1517–1521.
167. Heatfey, R.V. Helicobacter pylori infection inflammation / R.V. Heatfey // *Scand. Journal Gastroenterol.* – 1991. – Vol. 26, Suppl. 187. – P. 23-30.
168. Heleno, S. A. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: a review / S.A. Heleno, A. Martins, M.J. Queiros et al. // *Food Chemistry*. – 2015. – Vol. 173. – P. 501-513.
169. Hirschfield, G.M. Pathogenesis of cholestatic liver disease and therapeutic approaches / G.N. Hirschfield, E.J. Heathcote, M.E. Gershwin // *Gastroenterology*. – 2010. – Vol. 139. – P. 1481-1496.
170. Hussain, M.I. Natural product coumarins: biological and pharmacological perspectives / I.M. Hussain, Q.A. Syed, M.N.K. Khattak, et al. // *Biologia*. – 2019. – Vol. 74. – P. 863-888.
171. Jrgenson, T. Epidemiology in Gastroenterology / T. Jrgenson, V. Binder, O. Bonnevil // *Scand. Journal Gastroenterology*. – 1996. – № 31. – P. 199-207.
172. Kaur, C. Scopoletin derivatives and their biological activities: A review / C. Kaur, M. Mukonde, R. Kumar, et al. // *Our Heritage*. – 2019. – Vol. 67, № 7. – P. – 426-445.
173. Kazuo, N. Differential effects of flavonoid quercetin on oxidative damages induced by hydrophilic and lipophilic radical generators in hepatic lysosomal fractions

of mice / N. Kazuo, K. Michiyo, Y. Masako et al. // Journal of Health Science. – 2000 – Vol. 46. – P. 509-512.

174. Kleemann, R. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human in vitro and in vivo models / R Kleemann, L Verschuren, M Morrison, et al // Atherosclerosis. – 2011 – 218 – P. 44-52.

175. Kong, J.-M. Analysis and biological activities of anthocyanins / J.-M. Kong, L.-S. Chia, N.-K. Goh, et al. // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 64. – № 5. – P. 923-933.

176. Krishnaiah, D. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species / D. Krishnaiah, R. Sarbatly, R. Nithyanandam // Food and Bioproducts Processing. – 2011. – Vol. 89. – P. 217-233.

177. Larson, A.J. Therapeutic potential of Quercetin to decrease blood pressure: Review of efficacy and mechanisms / AJ Larson, JD Symons, T Jalili // Adv Nutr. – 2012 – 3 – P. 39-46.

178. Larson, R.A. The antioxidants of higher plants / R.A. Larson // Phytochemistry. – 1988. – Vol. 27. – № 4. – P. 969-978.

179. Lazaridis, K.N. Ursodeoxycholic acid “mechanisms of action and clinical use in hepatobiliary disorders” / K.N. Lazaridis, G.J. Gores, K.D. Lindor // Journal Hepatol. – 2001. - Vol. 35, №1. – P.134-146.

180. Lee, C.H. Protective mechanism of glycyrrhizin on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice / C.H. Lee, S.W. Park, Y.S. Kim et al. // Biol. Pharm. Bull. – 2007. – Vol. 30, №10. – P. 1898-1904.

181. Lei, L. Coumarin derivatives from *Ainsliaea fragrans* and their anticoagulant activity / L. Lei, Y. Xue, Z. Liu, et al. // Scientific Reports. – 2015. – Vol. 5 (13544). – P. 1-9.

182. Liao, W.C. Identification of two licorice species, *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra*, based on separation and identification of their bioactive components / W.C. Liao, Y.-H. Lin, T.-M. Chang, et al. // Food Chemistry. – 2012. – Vol. 132. – P. 2188-2193.

183. Lieber, C.S. Alcoholic liver injury: pathogenesis and therapy in 2001 / C.S. Lieber // *Pathol. Biol.* – 2001. – Vol. 49. – P. 738-752.
184. Maasouny, B. Natural history of acute and chronic hepatitis / B. Maasouny, H. Wedemeyer // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* – 2012. – Vol. 26, №4. – P. 401-412.
185. Mohammad, A. Pharmacological activities and phytochemistry of various plant containing coumarin derivatives / A. Mohammad // *Current Science Perspectives.* – 2015. – № 1 (3). – P. 77-90.
186. Muriel, P. *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants* / P. Muriel // New York: Academic Press – 2017. – 914 p.
187. Omura T. The carbon monoxide-binding pigment / T. Omura, R. Sato // *J. Biolog. Chem.* – 1964. – № 7. – P. 2370-2378.
188. Procházková, D. Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. / D. Procházková, I. Boušová, N. Wilhelmová // *Fitoterapia.* – 2011. – Vol. 82. – P. 513-523.
189. Rice – Evans, C.A. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food / C.A. Rice – Evans, N.J. Miller // *Biochem. Soc. Trans.* – 1996. – Vol. 1. – P. 99-162.
190. Samar, S.A. Anti-inflammatory and gastroprotective potential of leaf essential oil of *Cinnamomum glanduliferum* in ethanol-induced rat experimental gastritis / S.A. Samar, A.A.J. Gehad, A.E. Omayma // *Pharmaceutical Biology.* – 2017. – Vol. 55, № 1. – P. 1654-1661.
191. Shahidi, F. Phenolics and polyphenolics in food, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – a review / F. Shahidi, P. Ambigaipalan // *J. of Functional Foods.* – 2015. – Vol. 13. – P. 820-897.
192. Sherlock, S. *Diseases of the Liver and Biliary System* / S. Sherlock, J. Dooley. – 13th edition. London: Blackwell – 2018. – 813 p.

193. Skerget, M. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities / M. Skerget, P. Kotnik, M. Hadolin et al. // Food Chemistry. – 2005. – Vol. 89. – P. 191-198.
194. Sokol-Letowska, A. Antioxidant activity of the phenolic compounds of hawthorn, pine and skullcap / A. Sokol-Letowska, J. Oszmianski, A. Wojdylo // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 103. – P. 853-859.
195. Sumbul, S. Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview (Review) / S. Sumbul, M.A. Ahmad, M. Asif et al. // J. of Pharmacy and Bioallied Sciences. – 2011. – Vol. 3, № 3. – P. 361-367.
196. Tunon, M.J. An overview of animal models for investigating the pathogenesis and therapeutic strategies in acute hepatic failure / M.J. Tunon, M. Alvarez, J.M. Culebras et al. // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15. – P. 3086-3098.
197. Weber, L.W. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalcanes: carbon tetrachloride as a toxicological model / L.W. Weber, M. Boll, A. Stampfl // Crit. Ref. Toxicol. – 2003. Vol. 33. – P. 105-136.
198. Wu, D.F. Yao. Xue. Xue .Bao / D.F. Wu, R.X. Peng, H Wang // Nutr. – 1995. – Vol. 30. – № 11. – P. 801-805.
199. Wynn, T.A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / T.A. Wynn // J. Pathol. – 2008. – Vol. 214. – P. 199-210.
200. Yandrapu, H. Protective factors of the gastric and duodenal mucosa: an Overview / H. Yandrapu, J. Sarosiek // Current Gastroenterology Reports. – 2015. – Vol. 17, № 24. – P. 23-34.
201. Xhang, Y. Comprehensive methods for preventing and treating influenza / Y. Xhang // J.of Chinese medicine. – 2001. – № 65. – P. 6-10.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- АЛТ – аланинаминотрансфераза;
АСТ – аспартатаминотрансфераза;
БАВ – биологически активные вещества;
ВЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография
ВФС – временная фармакопейная статья;
ГОСТ – Государственный Стандарт;
ГРЛС – Государственный реестр лекарственных средств;
ГФ XIV – Государственная Фармакопея 14-го издания;
ДМА – диметиланилин;
ДПК – двенадцатиперстная кишка;
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;
ИП – индекс Паулса;
ЛП – лекарственный препарат;
ЛРП – лекарственный растительный препарат;
ЛРС – лекарственное растительное сырье;
ЛС – лекарственное средство;
ЛФ – лекарственная форма;
НД – нормативная документация;
ПОЛ – перекисное окисление липидов;
СОЖ – слизистая оболочка желудка;
СОП – стандартная операционная процедура;
ТСХ – тонкослойная хроматография;
ТУ – технические условия;
ТЭ – терапевтический эффект;
ЦОГ – циклооксигеназа;
ЩФ – щелочная фосфатаза;
ЯМР – ядерный магнитный резонанс.