

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



**БУДАЦЫРЕНОВА АЮНА ЦЫРЕНОВНА**

**ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА СУХОГО *SERRATULA MARGINATA TAUSCH*  
НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ  
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ**

3.3.6 – фармакология, клиническая фармакология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, доцент

Хобракова Валентина Бимбаевна

Улан-Удэ - 2022

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	11
1.1. Иммунодефицитные состояния и их коррекция с использованием иммуномодуляторов .....	11
1.2. Иммунотропное действие лекарственных средств растительного происхождения .....	16
1.3. Иммуномодулирующие свойства биологически активных веществ лекарственных растений.....	25
1.4. Характеристика <i>Serratula marginata</i> Tausch.....	33
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	36
ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА <i>SERRATULA MARGINATA</i> НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ ..	47
ГЛАВА 4. ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА <i>SERRATULA MARGINATA</i> ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЦИКЛОФОСФАМИДОМ	52
4.1. Оценка влияния экстракта <i>Serratula marginata</i> на массу и клеточность иммунных органов мышей при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом.....	52
4.2. Исследование влияния экстракта <i>Serratula marginata</i> на состояние гуморального звена иммунного ответа при иммунодефиците, индуцированном циклофосфамидом .....	54
4.3. Оценка воздействия экстракта <i>Serratula marginata</i> на состояние клеточного звена иммунного ответа при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом.....	55
4.4. Изучение фагоцитарной активности макрофагов под действием экстракта <i>Serratula marginata</i> при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом.....	56

4.5. Влияние экстракта сухого <i>Serratula marginata</i> на морфофункциональное состояние тимуса и селезенки при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом.....	58
4.6. Определение антиоксидантных свойств экстракта сухого <i>Serratula marginata</i> Tausch при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии .	66
ГЛАВА 5. ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ <i>SERRATULA MARGINATA</i> TAUSCH, ПРИ ИММУНОДЕПРЕССИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЦИКЛОФОСФАМИДОМ.....	72
5.1. Оценка воздействия индивидуальных соединений (лютеолина-7- <i>O</i> -глюкуронида, арабино-3,6-галактана и 20-гидроксиэкдизона), полученных из <i>Serratula marginata</i> , на состояние основных звеньев иммунитета .....	72
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	76
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	94
ВЫВОДЫ .....	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	97
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	130

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** В настоящее время в условиях загрязнения окружающей среды, физических воздействий (ионизирующего и СВЧ-излучения), длительного применения некоторых лекарственных препаратов (цитостатиков, антибиотиков, глюкокортикоидов и др.), хронического и эмоционального стресса происходит нарушение функционирования иммунной системы, что лежит в основе развития иммунодефицитных состояний, способствует развитию аутоиммунных заболеваний, аллергических, неинфекционных и инфекционно-воспалительных процессов, частому рецидивированию и атипичному течению заболеваний (Любошенко, 2014; Трошина, 2020; Арипова, 2021; Dhama, 2015; Stark, 2015). В связи с этим представляют большой интерес лекарственные средства, влияющие на основные звенья иммунитета и обладающие комплексным действием с учетом уровня и степени нарушений в иммунной системе (Лазарева, 2012; Лусс, 2018; Борщук, 2016; Самбукова, 2017; Хайтов, 2020). В настоящее время широко используются растительные средства и их извлечения, обладающие иммуномодулирующей активностью (Лазарева, 2005, 2012; Борсук, 2010; Гляделова, 2013; Walaa, 2012; Jantan, 2015). Кроме того, поиск новых отечественных лекарственных средств является одной из актуальных задач программы импортозамещения (Оборин, 2021; Атрощенко и др., 2022; Мельников, 2022; Соболева, Дехтярь, 2022). Активно ведутся исследования по применению иммуномодуляторов растительного происхождения для профилактики и лечения COVID-19 (Khanna, 2020; Sengupta, 2021; Simonova, 2021; Zhang, 2021; Fatimawali, 2022).

**Степень разработанности темы исследования.** На мировом фармацевтическом рынке представлены более 100 международных непатентованных наименований и около 400 торговых наименований иммуномодуляторов; насыщенность рынка препаратами этой группы продолжает расти (Исмаилов, 2017). Около 25% всех лекарственных средств на фармацевтическом рынке России составляют препараты растительного

происхождения (Бойко, 2017). Иммуномодуляторы/иммуностимуляторы представлены 73 наименованиями (373 позиции), из них преобладают лекарственные средства растительного происхождения (47%). Источников иммунотропных лекарственных средств растительного происхождения, официально использующихся в практической медицине в нашей стране, немного (Вельмаякина, 2012; Дутова, 2016). Наиболее известными являются лекарственные средства, полученные из растений рода *Echinacea* (Иммунал, Эхинацин, Эхинацея-галенофарм и др.) (Авдеева, Куркин, 2007; Дронов, 2011; Дутова, 2016). В связи с этим поиск новых лекарственных препаратов на основе растений, обладающих иммуномодулирующей активностью, является актуальной и перспективной задачей современной медицины.

Одним из таких представителей являются растения рода Серпуха – *Serratula*. Известно использование растений рода *Serratula* еще в древней китайской, монгольской и тибетской медицине; извлечения из растений применяются при неврозах и эпилепсии, как средства при воспалительных и инфекционных заболеваниях (диспепсия, фарингит, тонзиллит и др.) (Абышева, 2001; Воробьева, 2006). Экспериментальное исследование экстрактов из надземной части серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) показало их эффективность в качестве противоизвенных средств, а также способность усиливать эффективность цитостатиков в терапии злокачественных опухолей (Ангаскиева, 2003). Установлено адаптогенное, ноотропное, антиоксидантное свойства экстракта сухого серпухи васильковой (*Serratula centauroides* L.) (Свиридов, 2016; Разуваева и др., 2021; Маркова и др., 2022; Shantanova et al., 2021). Уникальная биологическая активность растений рода *Serratula* определяется за счет комплекса веществ, входящих в их состав, среди которых идентифицированы: экдистероиды, полисахариды, тритерpenовые сапонины, флавоноиды, макро- и микроэлементы. Основными действующими веществами растений рода *Serratula* являются экдистероиды, обладающие значительной биологической активностью, в том числе, иммуномодулирующими свойствами (Мунхжаргал

и др., 2007; Растительные ресурсы России..., 2013; Shakhmurova, 2018; Shantanova et al., 2021).

В Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН получен экстракт сухой из надземной части серпухи окаймленной (*Serratula marginata* Tausch). В литературе отсутствуют сведения о фармакологической активности *S. marginata*. Высокая эффективность извлечений, полученных из растений рода *Serratula*, аргументирует целесообразность исследований полученного экстракта *S. marginata* с последующей разработкой нового иммуномодулирующего средства.

**Целью** исследования явилось определение влияния экстракта сухого из надземной части *Serratula marginata* Tausch на состояние иммунной системы при экспериментальном иммунодефиците.

Для достижения указанной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1) изучить влияние экстракта сухого *S. marginata* на гуморальное, клеточное звенья иммунного ответа и фагоцитоз макрофагов при введении его интактным животным;

2) определить иммуномодулирующую активность экстракта сухого *S. marginata* в отношении показателей основных звеньев иммунитета у животных с иммунодефицитом, индуцированном циклофосфамидом;

3) исследовать влияние индивидуальных веществ, выделенных из надземной части *S. marginata*, на состояние иммунной системы при циклофосфамид-индуцированной иммунодепрессии.

**Научная новизна.** Впервые установлена выраженная иммуномодулирующая активность экстракта сухого из надземной части *Serratula marginata* Tausch при циклофосфамид-индуцированной иммунодепрессии. Введение мышам внутрижелудочно экстракта сухого *S. marginata* в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг способствует нормализации нарушенных циклофосфамидом показателей иммунитета, что выражается в увеличении массы и числа ядроодержащих

клеток тимуса и селезенки, индексов клеточно-опосредованных иммунных реакций гиперчувствительности замедленного типа и «трансплантат против хозяина», абсолютного числа антителообразующих клеток (АОК) и числа АОК на  $10^6$  спленоцитов, фагоцитарного индекса, а также активации антигенпрезентирующей функции перитонеальных макрофагов. Экстракт сухой *S.marginata* ограничивает деструктивные процессы в тимусе и селезенке, вызванные введением циклофосфамида, с восстановлением их структурных компонентов; повышает пролиферативную активность клеток лимфоидного ряда. При оценке влияния индивидуальных веществ, выделенных из *S.marginata*, установлено, что наибольшее стимулирующее влияние на клеточный и гуморальный иммунитет оказывают лютеолин-7-*O*-глюкуронид и арабино-3,6-галактан, а на фагоцитоз макрофагов - 20-гидроксиэйказон.

При введении экстракта сухого *S.marginata* интактным мышам показано, что испытуемое средство не оказывает достоверного влияния на состояние основных звеньев иммунитета, а также на пролиферативную активность Кон-А- и ЛПС-активированных лимфоцитов.

Одним из механизмов иммуномодулирующего действия экстракта сухого *S.marginata* является его способность снижать интенсивность свободнорадикальных процессов в гомогенате селезенки, вызванных циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессией, стабилизируя тем самым мембранные клеточных структур; повышать активность ферментов антиоксидантной защиты организма, а также проявлять радикал-связывающую активность в отношении реакционно-активных молекул.

Иммуномодулирующая активность экстракта сухого *S.marginata* сопоставима с действием референтного препарата – «Эхинацея».

**Практическая значимость.** Экспериментально обоснована возможность коррекции циклофосфамид-индуцированного иммунодефицита растительными средствами - экстрактом сухим из надземной части *S.marginata* и выделенными из нее индивидуальными соединениями, что дает

основание считать целесообразными дальнейшие исследования по разработке новых потенциальных иммуномодулирующих препаратов.

Материалы исследований используются в учебном процессе на кафедрах общей патологии человека; фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- экстракт сухой *S.marginata* при введении интактным мышам не оказывает как стимулирующего, так и ингибирующего действия на показатели клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа;

- введение экстракта сухого *S.marginata* животным на фоне иммунодепрессии, индуцированной циклофосфамидом, приводит к ослаблению угнетающего действия цитостатика, восстанавливая массу и количество ядроодержащих клеток тимуса и селезенки, показатели иммунитета (абсолютное и относительное число АОК, индексы реакций гиперчувствительности замедленного типа и «трансплантат против хозяина», фагоцитарный индекс, выраженность антигенпрезентирующей функции макрофагов), а также структуру тимуса и селезенки;

- экстракт сухой *S.marginata* снижает интенсивность свободнорадикальных процессов в гомогенате селезенки, стабилизирует мембранны иммунокомпетентных клеток, повышает активность ферментов антиоксидантной защиты организма, а также проявляет радикал-связывающую активность в отношении реакционно-активных молекул;

- из индивидуальных веществ *S.marginata* лютеолин-7-*O*-глюкуронид и арабино-3,6-галактан обладают наиболее выраженным иммуномодулирующим действием, в большей степени восстанавливая показатели клеточного и гуморального иммунитета; а 20-гидроксиэкдизон

оказывает преимущественное влияние на функциональную активность макрофагов.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на: XIX межрегиональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2020); II международной научно-практической конференции «Научный и инновационный потенциал развития производства, переработки и применения эфиромасличных и лекарственных растений» (Севастополь, 2020); Первом Национальном конгрессе по фитотерапии и траволечению (Москва, 2021); IV Всероссийской конференции с международным участием, посвященной Году науки и технологий в Российской Федерации и 40-летию Института общей и экспериментальной биологии СО РАН «Разнообразие почв и биоты Северной и Центральной Азии» (Улан-Удэ, 2021); Всероссийской научно-практической конференции «Растительные адаптогены в восстановительной медицине» (Улан-Удэ, 2021); International symposium «Traditional Mongolian integrative medicine: development achievements, trends and prospects» (Ulaanbaatar, 2021).

**Связь задач исследований с проблемным планом НИР.** Работа выполнена в Отделе биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН в соответствии с задачами по проекту № 0337-2016-0006 «Биотехнологические основы и молекулярно-клеточные механизмы действия адаптогенных средств, созданных на основе экдистероидсодержащих растений Восточной Сибири».

**Личный вклад автора.** Автором диссертационной работы проведен поиск и анализ данных по заданной теме; планирование и проведение экспериментальных исследований, обработка, интерпретация и обсуждение результатов; подготовлены публикации по основным положениям диссертации; оформлена рукопись диссертации.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 2 - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

**Структура и объем диссертации.** Работа представлена на 130 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных экспериментальных исследований (3 главы), обсуждения результатов, заключения, выводов, списка литературы, включающего 257 источников, 99 из них - на иностранных языках. Работа иллюстрирована 17 таблицами, 8 рисунками, в том числе микрофотографиями.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Иммунодефицитные состояния и их коррекция с использованием иммуномодуляторов

Сохранение здоровья и биологическая индивидуальность организма, как известно, зависят, прежде всего, от гармоничного взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем. Однако в практическом здравоохранении, говоря о здоровье, в первую очередь, предполагают его зависимость от нормального функционирования непосредственно иммунной системы. Динамические изменения показателей иммунной системы происходят в ответ на различные состояния организма: инфекции, травмы, опухоли и т.д. (Лусс, 2018).

В зависимости от причин возникновения иммунодефицитные состояния (ИДС) разделяются на первичные и вторичные. Вторичные ИДС являются следствием серьёзных внешних воздействий на организм: радиации, иммуносупрессивной химиотерапии, тяжёлых инфекций и травм, неправильного питания, нарушения обмена веществ (Щербина, 2007, Karen, 2021). Безусловно, среди иммунодефицитных состояний по частоте вторичные иммунодефициты преобладают над первичными (Хайтов, 2010).

Высокая медико-социальная и экономическая значимость иммунодефицитных состояний определяется широким распространением заболеваний, в патогенезе которых иммунологические нарушения имеют ведущее или парциальное значение. В странах с высокоразвитой промышленностью в конце XX века отмечен рост иммунозависимых заболеваний, развивающихся на фоне дезадаптации иммунной системы, ухудшения экологической ситуации, влияния на организм неблагоприятных факторов окружающей среды, приведших к росту заболеваемости населения. Изменилось и клиническое течение различных заболеваний, чаще отмечается хронизация и резистентность к общепринятым методам терапии (Латышева, 2005; Любошенко, 2014; Арипова, 2021). Практически любое инфекционное

заболевание сопровождается формированием у пациентов вторичного иммунодефицита (Дутова, 2015).

Не существует единого определения иммунодефицитных состояний. Так, по определению Р.М. Хайтова иммунодефицит – это снижение функциональной активности основных звеньев иммунной системы, приводящее к нарушению защитных сил организма от микробов и проявляющееся в повышенной инфекционной заболеваемости (Хайтов, 2010). Согласно Международной классификации болезней, под термином «вторичный иммунодефицит» понимают нарушения иммунитета, возникающие в результате соматических и других болезней, а также прочих неблагоприятных для организма факторов. Поэтому вторичный иммунодефицит не является отдельной нозологической формой. Это приобретенный клинико-иммунологический синдром, развивающийся чаще всего на фоне различных заболеваний. Развитие иммунодефицитного состояния утяжеляет течение основного заболевания, снижает эффективность его терапии, способствует формированию осложнений. Поэтому вторичные иммунодефициты рассматриваются как клинико-иммунологический синдром, который развивается на фоне ранее нормально функционировавшей иммунной системы, характеризуется устойчивым выраженным снижением количественных и функциональных показателей специфических и/или неспецифических факторов иммунорезистентности и является зоной риска развития хронических инфекционных заболеваний, аутоиммунной патологии, аллергических болезней и опухолевого роста (Farooqi, 2002; Walther, 2005; Арипова, 2021).

Выявление вторичных иммунодефицитных состояний и их своевременная коррекция позволяет существенно улучшить результаты лечения основного заболевания и является весьма актуальным (Новикова, 2009). Высокая распространенность хронических рецидивирующих воспалительных заболеваний, как проявления иммунологической недостаточности, убеждает в обоснованности включения

иммуномодуляторов в комплексную терапию, что признано специалистами большинства стран мира (Новикова, 2016).

Основные усилия при лечении различных заболеваний направлены на оптимизацию этиотропной терапии, нормализацию сниженных функций иммунитета (иммунотропная терапия) и профилактику осложнений. Иммунотропная терапия включает специфические и неспецифические методы регуляции иммунного ответа с использованием препаратов химической или биологической природы, обладающих способностью восстанавливать нарушенный иммунный ответ (Лусс, 2018). Единой общепринятой классификации иммунотропных препаратов пока нет. В работе Т.П. Марковой (2019) представлены классификации следующих авторов: Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. (1996); Ширинский В.С. (1997); Нестерова И.В., Сепиашвили Р.И. (2000); Нестерова И.В., Старченко А.А., Иванова С.А., Симбирцев А.С. (2002); Маркова Т.П. (2003). Иммуномодуляторы в целом – это различные биологически активные вещества (субстанции), влияющие на иммунитет, как минимум, двояко: усиливают (повышают) функции иммунной системы (иммуностимуляторы) или подавляют (понижают) иммунный ответ (иммунодепрессанты). Существует также точка зрения, согласно которой иммуномодуляторы – это средства, которые приводят патологически измененный иммунный ответ в физиологическую норму (Лазарева, 2012, Хайтов, 2020).

Иммуномодуляторы — это природные и синтетические вещества, стимулирующие процессы иммунитета, применяются при иммунодефицитных состояниях, хронических вялотекущих инфекциях, а также при некоторых онкологических заболеваниях (Борщук, 2016).

К группе иммуномодулирующих относят лекарственные средства, которые обладают способностью стимулировать иммунные процессы, восстанавливать нарушенные функции иммунной системы, активировать иммунокомpetентные клетки (Т- и В-лимфоциты), а также дополнительные

факторы иммунитета (макрофаги, систему комплемента и др.) (Доценко, 2014).

Существует довольно много классификаций иммуномодуляторов, но наиболее полная из них основана на химической структуре и происхождении. Ниже представлена классификация иммуномодуляторов по происхождению, приведенная в Российском Федеральном руководстве по использованию лекарственных средств (Чучалин, 2011).

### I. Препараты экзогенного происхождения

1. Бактериальные

2. Растительные

### II. Препараты эндогенного происхождения

1. Иммунорегуляторные пептиды

Естественные

Химически синтезированные

2. Цитокины

интерлейкины

Интерфероны (природные, рекомбинантные)

Индукторы интерферона (природные, синтетические)

Прочие препараты

### III. Химически чистые и синтезированные препараты

1. Вещества, полученные с помощью направленного синтеза.

2. Аналоги иммуномодуляторов эндогенного происхождения.

В клинической практике более удобным и предпочтительным является использование классификации иммуномодулирующих средств по Д.К. Новикову

### I. Средства бактериального происхождения:

1. Лизаты бактерий: бронхо-мунал, имудон, рибомунил, ИРС-19;

2. Микробные макромолекулярные соединения: мурамилдипептид, пирогенал, продигиозан, нуклеинат натрия.

### II. Средства растительного происхождения: эхинацея пурпурная.

### III. Цитокины и медиаторы:

1. Тимические гормоны: тактивин, тималин, тимоген;
2. Пептиды костного мозга: миелопид;
3. Индукторы интерферона: криданимод, тилорон, меглумин акридонацетат, арбидол, амизол;
4. Интерфероны: интерферон  $\alpha$ , интерферон  $\beta$ ;
5. Интерлейкины: интерлейкин-1 $\beta$ , интерлейкин-2;
6. Колониестимулирующие факторы:  
филграстим, молграмостим, сарграмостим;
7. Моноклональные антитела: инфликсимаб, адалимумаб, омализумаб.

### IV. Синтетические иммуномодуляторы:

левамизол, галавит, полиоксидоний, имунорикс.

Своевременное и обоснованное применение иммуномодуляторов позволяет в большинстве случаев избежать развития серьезных осложнений при хронических, рецидивирующих инфекционно-воспалительных заболеваниях. Клинические наблюдения показывают, что комбинированное применение иммуномодуляторов в традиционной терапии заболеваний оказывается наиболее эффективным, чем использование препаратов по отдельности. Преимущественно иммунокорректоры применяют в комплексной терапии заболеваний с клиническими признаками вторичной иммунологической недостаточности, которая характеризуется часто рецидивирующими бактериальными, вирусными и грибковыми инфекциями, не поддающимися традиционным методам лечения (Федоров, 2015, Юшков, 2005). Иммуномодулирующая терапия - это стратегия, основанная на модуляции иммунного ответа. Она не оказывает непосредственного воздействия на патоген и не вызывает развития лекарственной устойчивости микробов. Благодаря этому применение иммуномодуляторов в клинической практике может стать решением стремительного распространения antimикробной резистентности. Иммуномодулирующая терапия позволяет значительно расширить подходы к лечению пациентов с иммунными

расстройствами, у которых применение антибактериальных препаратов и вакцинации часто оказываются недостаточно эффективными. Иммуномодуляторы, обладая потенциально широким спектром активности в отношении вирусов, бактерий, грибов и простейших, могут использоваться в качестве неспецифической неотложной терапии и профилактики при появлении нового возбудителя или биологической атаке (Семенов, 2004; Morton, 2014; Shirani, 2015).

## 1.2. Иммунотропное действие лекарственных средств растительного происхождения

История фитотерапии насчитывает не одну тысячу лет, имеются данные об использовании целебных свойств растений древнейшими народами мира, особенно в борьбе с инфекционными заболеваниями, но в XXI в. это направление получило новый импульс к развитию и стало очень популярным среди врачей и пациентов (Лазарева, 2020; Kumar, 2022). За последние десятилетия достигнуты значительные успехи в поиске, изучении, разработке и создании новых иммуномодулирующих препаратов. Несмотря на широкий ассортимент синтетических препаратов для коррекции иммунодефицитных состояний, происходит популяризация фитопрепаратов среди населения и фармацевтических компаний, которые проявляют все больший интерес к растительному сырью как к источнику получения ценных биологически активных веществ (полифенолов, полисахаридов, минеральных веществ, аминокислот, органических кислот, витаминов и др.), поскольку они широко используются при комплексном лечении различных заболеваний, выгодно отличаясь низкой токсичностью, мягкостью и надежностью действия, возможностью длительного их применения без риска возникновения побочных явлений, более физиологическим действием на организм, отсутствием выраженных побочных эффектов, достаточно выраженным иммуномодулирующим действием за счет комплекса биологически активных веществ, действующих на организм в целом.

Компоненты фитокомпозиций, каждый из которых обладает определенным фармакологическим спектром, потенцируют действие друг друга, как правило, не вызывая побочного действия. В связи с этим изучение и внедрение в практическую медицину препаратов растительного происхождения является одним из перспективных и актуальных направлений иммунофармакологии (Бакуридзе, 1993; Лазарева, 2005; Хайтов Р.М., 2009; Борсук О.С., 2010; Хобракова В.Б., 2010; Walaa N.A., 2012; Николаева, 2014; Веселова, 2016; Конакова, 2019, 2022).

Фитотерапия является достаточно популярным методом также и в развитых странах, что обусловлено влиянием средств массовой информации, которые пропагандируют нетрадиционные методы лечения в качестве более натуральных и, соответственно, более безопасных (Северин, 2019).

Австралийское исследование, проводимое методом опроса пациентов, использующих в лечении заболеваний средства народной и альтернативной медицины, продемонстрировало, что их применение было связано с высокой приверженностью здоровому образу жизни и отсутствием эффективности от терапии обычными «традиционными» методами (Smith, 2006). Опрос 6 тысяч семей в Италии показал, что 2,4% от всей когорты в течение года в качестве лечения своих детей в возрастной категории от 0 до 17 лет использовали растительные средства, в Южной Австралии — 6,1% родителей из 911 участников (Williamson, 2008). Анализ, проведенный в 2007 г. Национальным институтом США по изучению рака (National Cancer Institute, NCI), показал, что действующие вещества для 2/3 лекарственных препаратов, разработанных в предшествующие 25 лет, имели природное происхождение (Newman, 2016). Сесквитерпеновый лактон артемизин был открыт в 1972 г. китайским фармакологом Ту Юю, получившим за это открытие в 2015 г. половину Нобелевской премии по медицине и физиологии. Артемизин — препарат на основе полыни однолетней (*Artemisia annua*) — в настоящее время используется во многих странах в качестве первой линии при лечении

малярии в связи с возрастающей устойчивостью малярийного плазмодия к препаратам предыдущего поколения (Faulkenberg, 2012).

Согласно проведенным исследованиям фитопрепараты до сих пор занимают достойное место среди ассортимента лекарственных средств на фармацевтическом рынке России, около 25 % от всех зарегистрированных ЛС (Бойко, 2017). Большой интерес в качестве новых растительных источников лекарственных средств представляют растения Южной Сибири и, в частности, Байкальского региона, с богатой историей, уходящей корнями к традиционной тибетской медицине (Дутова, 2016; Николаев, 2020).

В свете последних реалий активно изучается влияние растительных иммуномодуляторов в том числе в борьбе с Covid-19 (Tiwari, 2020). Fatimawali et al. (2022) были проведены клинические испытания, в которых исследовали биоактивные соединения листьев бетеля в качестве иммуномодуляторов у пациентов с COVID-19. Это исследование было направлено на выявление новых иммуномодулирующих соединений, полученных из листа бетеля, для лечения симптомов COVID-19 за счет модуляции профиля цитокинов. A.Y. Parbat et.al. (2021) опубликовали этnofармакологический обзор традиционных лекарственных растений, применяемых в качестве иммуностимуляторов в комплексной терапии при COVID-19. M. Singh (2021) и K. Bijelić (2022) исследовали эффективность и безопасность биологически активных веществ, выделенных из растений (кверцетин, куркумин, байкалин, кемпферол, ресвератрол, глициризин, ликорин, колхицин), в терапии против SARS-CoV-2.

Среди иммунотропных препаратов растительного происхождения имеют изученный механизм действия и наиболее часто применяются лекарства, полученные из эхинацеи (Маркова, 2008). В мета-анализе, включавшем 22 рандомизированных контролируемых исследования, представлено заключение, что разные препараты эхинацеи существенно различаются по эффективности (Linde, 2006).

Препараты эхинацеи пурпурной, благодаря наличию в своем химическом составе фенилпропаноидов, оказывают не только иммуномодулирующее действие, но и обладают противовоспалительными, ранозаживляющими, антимикробными, противовирусными, антиоксидантными свойствами и занимают одно из ведущих мест по объему продаж, как в России, так и за рубежом среди растительных лекарственных средств (Вельмаякина, 2009). Также препараты из эхинацеи стимулируют реакции клеточного и гуморального иммунитета, ускоряют процесс заживления ран, язв. Как иммуномодулятор, эхинацея используется также при психическом и физическом переутомлении, после антибиотикотерапии, цитостатической и лучевой терапии. В исследованиях на животных показаны «противовозрастные» (anti-aging) и противоопухолевые эффекты эхинацеи при лейкемии (Miller, 2005). Убедительно фундаментальными и клиническими исследованиями доказаны ее антивирусный, антибактериальный, противогрибковый, антиоксидантный, противовоспалительный эффекты (Хасина, 2014). Данное многолетнее травянистое растение содержит полисахариды, эфирное масло, в корнях содержится до 6% инулина, гликозиды, фенилкарбоновые кислоты, а также ряд алкиламидов (Bauer, 1988; Гарник, 2007). В исследованиях *in vitro* было доказано стимулирование выработки цитокинов макрофагами человека, увеличение фагоцитарного индекса и активация NK-клеток (Burger, 1997; Wolfram, 1999; Barrett, 2003). Много работ, подтверждающих адаптогенный эффект эхинацеи. Извлечения из эхинацеи повышали устойчивость организма мышей к гамма-облучению (Aboueella, 2007), оказывали протективное действие при токсическом поражении печени и почек мышей диэтилнитрозамином (Rezaie, 2013), способствовали восстановлению органометрических показателей надпочечников после завершения ингаляций мышами толуола (Романюк, 2011), стимулировали иммунитет у кур, подвергнутых вакцинации штаммом H5 N1 (Шараевская, 2010).

В настоящее время актуальным вопросом является создание конкурентоспособных импортозамещающих лекарственных средств, так как на фармацевтическом рынке Российской Федерации доминируют зарубежные дорогостоящие препараты (Куркин, 2012; Оборин, 2021; Атрощенко и др., 2022; Мельников, 2022; Соболева, Дехтярь, 2022). Большой интерес представляет изучение иммуномодулирующего действия лекарственных средств из разных видов лекарственных растений, в том числе, в условиях индуцированной иммуносупрессии.

Так, экстракт *Sphaeranthus indicus* L. (*Asteraceae*), в котором содержится ароматическое соединение метилхавикол, в эксперименте проявил иммуномодулирующую активность: стимулировал клеточный иммунитет, а также увеличивал фагоцитарную функцию лейкоцитов и титр антител-гемагглютининов на фоне экспериментального иммунодефицита (Makhija, 2011).

Экстракты листьев индийского эфирномасличного растения *Nyctantes arbor-tristis* Linn. (*Oleaceae*) в эксперименте *in vivo* увеличивали массу и количество клеток селезёнки, стимулировали пролиферацию лейкоцитов, синтез антител-гемагглютининов, повышали число антителообразующих клеток селезёнки и выживаемость животных при анафилактическом шоке (Kannan, 2010).

Водно-спиртовый экстракт «Эхиносол» в дозе 300 мг/кг стимулировал фагоцитарную активность нейтрофилов, миграцию моноцитов и лимфоцитов в перitoneальный экссудат, количество антителообразующих клеток в селезёнке и синтез иммуноглобулинов (Исайкина, 2008).

В работе А.В. Кропотова и др. (2015) изучен механизм влияния экстракта женьшеня на симулирование интерфероногенеза и метаболическую перitoneальную активность макрофагов в условиях иммуносупрессии, индуцированной введением мышам ксенобиотиков метотрексата и кадмия хлорида.

В исследовании О.Л. Сайбель (2020) установлено стимулирующее влияние на гуморальный и клеточный иммунитет экстракта и фенольных соединений из цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) при циклофосфановой иммуносупрессии.

Полисахаридные экстракты *Anacyclus pyrethrum* (L.), *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad. и *Alpinia galanga* (L.) Willd. в эксперименте на мышах показали выраженный стимулирующий эффект на ретикуло-эндотелиальную систему, увеличивали количество перитонеального экссудата и клеток селезенки мышей (Bendjeddou, 2003).

С.В. Дутова и др. (2012) установили, что фитопрепараты колюции гравилатовидной значительно стимулируют продукцию провоспалительных цитокинов (ИЛ-1Р, ИЛ-2) и ИНФ-у лейкоцитами периферической крови, превосходя при этом настойку эхинацеи и угнетают продукцию противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), доказав иммуностимулирующее действие данных фитосредств.

В эксперименте А.К. Рахимовой (2021) на экспериментальных животных изучена активность иммунной системы под действием растительного фитопрепарата Алхидин. В условиях экспериментального гепатита, вызванного введением циклофосфана, на фоне приема фитопрепарата Алхидин наблюдалось увеличение количества В-лимфоцитов. При этом у здоровых экспериментальных животных введение фитопрепарата алхидин никак не отражалось в количественных параметрах, характеризирующих Т, В или О лимфоциты, а также показателях функциональной активности нейтрофилов в НСТ-тесте.

Доказано иммуномодулирующее действие экстракта *Gentiana algida* Pall при иммунодефиците, вызванном введением азатиоприна, за счет восстановления основных звеньев иммунитета и морфофункционального состояния тимуса (Хобракова В.Б. и др., 2017, 2020).

В опытах на мышах линии F1 (CBAxC57B1/6) установлена иммунокорригирующая активность растительных средств - сухих экстрактов

астрагала перепончатого, софоры желтоватой, левзеи одноцветковой, смолевки енисейской. Показано, что испытуемые средства способны ослаблять супрессивное действие цитостатика азатиоприна на антителогенез и клеточно-опосредованную иммунную реакцию, что выражается в повышении иммунологических показателей. Исследуемые средства не изменяют показатели иммунитета у интактных мышей (Хобракова, 2010, 2012, 2017, 2020).

Также в условиях лекарственных иммуносупрессий, вызванных азатиоприном, канамицином и туберкулостатиками, показана иммуномодулирующая активность экстракта сухого пятилистника кустарникового, который способен ослаблять супрессивное действие вышеуказанных препаратов на показатели антителообразования, клеточно-опосредованные реакции и на фагоцитарную активность за счет снижения продукции макрофагами провоспалительных (IL-1 $\beta$ , IL-8, TNF- $\alpha$ ) и увеличения содержания противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) (Хобракова, 2012).

В ИОЭБ СО РАН были изучены иммунотропные свойства многокомпонентных растительных средств, созданных на основе трактатов тибетской медицины: «Нефрофит», «Эксабол», «Пентафитон», «Иммунополифит», «Атерофит», «Панкреофит», «Аркосител», чай «Байкальский-7», «Полифитотон». В ходе исследований показано, что данные средства ослабляют супрессивное действие азатиоприна на показатели основных звеньев иммунного ответа, восстанавливая индекс реакции ГЗТ, увеличивая количество АОК и повышая функциональную активность перitoneальных макрофагов (Петунова, 2004; Хобракова 2006, 2008, 2010, 2014, 2015).

Курсовое применение экстракта шлемника байкальского у мышей в условиях иммунодефицита, индуцированного циклофосфаном, оказывало выраженное стимулирующее действие на костномозговое кроветворение за

счет увеличения общего количества клеток и стимуляции всех ростков гемопоэза (Борсук, 2010).

Р.И. Лукашовым (2013) исследовано стимулирующее влияние спиртового экстракта цветков рудбекии шершавой на гуморальное звено иммунитета, при этом происходило повышение синтеза иммуноглобулинов различных классов культурой лимфоцитов *in vitro*.

В.А. Болибок (1999) проведена оценка иммуномодулирующего эффекта 5 БАД производства фирмы ENRICH (США), в состав которых входят лекарственные растения-иммуномодуляторы. БАД "Echinacea" и "Pan d'Arco" являются монопрепаратами, в которые входят *Echinacea purpurea* и *Tabebuia heptophylla* соответственно, а остальные — "Endida", "I-Plus" и "NutriBlitz" являются сложными комбинациями из лекарственных трав, микроэлементов и модификаторов.

A. Guo et al. (2015) обнаружили, что экстракт солодки увеличивает Т-клеточность как *in vitro*, так и *in vivo* у мышей с химически – индуцированным колитом благодаря входящим в состав изоликвиритигенину и нарингенину.

И.В. Свиридовым (2015) в экспериментах на мышах выявлена эффективность экстракта серпухи васильковой (*Serratula centauroides* L.) по отношению к реакции гуморального и клеточного звеньев иммунного ответа в условиях иммунодефицита, вызванного введением азатиоприна, что выражалось в увеличении абсолютного, относительного количества АОК и индекса реакции ГЗТ.

В работе У.М. Хусейнова (2018) изучены иммунотропные свойства композиции на основе иммуностимулирующего препарата тимогар и суммарного экстракта подорожника большого и мяты перечной. Было показано положительное влияние экстракта на число антител в периферической крови мышей, которых иммунизировали эритроцитами барана. Также была доказана более выраженная иммуностимулирующая

активность исследуемых средств по сравнению с препаратом тимогар при моделировании вторичных иммунодефицитов у мышей.

В эксперименте А.С. Аргынбековой (2007) показано иммуномодулирующее действие густого экстракта из почек тополя бальзамического. Экстракт повышал количество лимфоидных клеток в селезенке и лимфатических узлах тонкого кишечника, нормализовал этот показатель в костном мозге.

Экстракт *Bergenia crassifolia* (бадана толстолистного) в условиях иммунодепрессии корrigировал гуморальный иммунный ответ (Цыдендамбаев, 2006).

Исследования свойств водных и спиртовых экстрактов гибискуса сабдариффа в эксперименте на мышах подтвердили их иммуномодулирующую активность за счет влияния на клеточно-опосредованное и гуморальное звенья иммунитета (Титилайо, 2008).

G. Ramadan et al. (2012) в своей работе доказали иммуномодулирующее и антиоксидантное действие сухого и водного экстрактов листьев египетского сладкого майорана (*Origanum majorana* L.) у крыс с иммunoсупрессией, вызванной циклофосфамидом. В результате эксперимента установлено восстановление индекса реакции ГЗТ, массы и клеточности лимфоидных органов, а также увеличение активности каталазы и содержания восстановленного глутатиона.

В эксперименте P.E. Joshua (2022) на крысах линии Вистар показал иммуномодулирующее и антиоксидантное действие экстракта семян *Datura stramonium* L. (*Solanaceae*) в условиях циклофосфамид-индуцированного иммунодефицита. Благодаря высокому содержанию акутумина, хинина, катехина, хлорогеновой кислоты, галловой кислоты, кверцетина, ванилиновой кислоты, лютеолина, формозанина С, сапонина, цианидина, дубильной кислоты, З-карена, лимонена и α-терпинеола экстракт восстанавливал клеточность, синтез IgA, IgG, увеличивал активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы.

### 1.3. Иммуномодулирующие свойства биологически активных веществ лекарственных растений

В процессе поиска новых перспективных фитопрепаратов важным этапом является изучение фармакологической активности и химического состава лекарственных растений. В многочисленных исследованиях доказана иммунотропная активность лекарственных препаратов растительного происхождения благодаря входящим в их состав индивидуальным веществам (флавоноидам, сапонинам, фенилпропаноидам, полисахаридам, эндоцистериоидам, лактонам, алкалоидам, терпеноидам, гликозидам и др.) (Jantan, 2015, Удалов, 2014; Panche, 2016; Johra, 2021). В последние десятилетия пристальное внимание исследователей привлекают продукты вторичного метаболизма растений — флавоноиды, в связи с широким спектром их биологического действия (Цыдендамбаев, 2006). Фенилпропаноиды обладают широким спектром функций: защищают растения от травоядных животных и микробных заболеваний, являются структурными компонентами клеточных стенок, защищают ткани растений от ультрафиолетового света, входят в состав пигментов и сигнальных молекул (Симонян, 2005; Bernards, 2010). Colunga Biancatelli RML (2020) в своей работе доказал иммуномодулирующее, противовирусное свойство флавоноида кверцетина при совместном использовании с витамином С в борьбе с COVID-19.

В обзоре N. Yahfoufi (2018) показано, что полифенольные соединения подавляют экспрессию Toll-подобных рецепторов (TLR). Их антиоксидантная активность и способность ингибировать ферменты, участвующие в производстве эйказаноидов, также способствуют их противовоспалительным и иммуномодулирующим свойствам. Они ингибируют определенные ферменты, участвующие в производстве активных форм кислорода (АФК), такие как ксантинооксидаза и NADPH-оксидаза (NOX), в то время как активируют другие эндогенные

антиоксидантные ферменты, такие как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и содержание глутатиона.

В исследовании В.Б. Хобраковой, Д.З. Цыреновой (2017) доказано иммуномодулирующее действие фенилпропаноида (форситозида В), выделенного из клубней зонника клубненосного (*Phlomoides tuberosa* (L.) Moench) за счет стимуляции клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа при азатиоприновой иммуносупрессии.

В исследованиях A. Ganeshpurkar, A.K. Saluja (2017, 2018) показано влияние флавоноидов рутина и катехина на регуляцию иммунного ответа при экспериментальной иммунодепрессии, вызванной циклофосфамидом. Введение рутина, катехина в дозах 25, 50 и 100 мг/кг приводило к значительному увеличению титра антител в тесте на гемагглютинацию, повышению уровня иммуноглобулинов, усилинию реакции ГЗТ, восстановлению количества лейкоцитов и увеличению фагоцитарного индекса по сравнению с данными у крыс, получавших циклофосфамид.

В исследованиях В.Б. Хобраковой, Д.Н. Оленникова (2012) установлено, что флаваноны софоры желтоватой (куаринон и софорафлаванон G) стимулируют антителообразование и клеточно-опосредованную иммунную реакцию ГЗТ в условиях экспериментального иммунодефицита, индуцированного азатиоприном.

Е.Б. Хлебцовой и др. (2014) выявлена выраженная стимуляция индекса реакции ГЗТ флавоноидами, входящими в состав лофанта анисового (*Lophanthus anisatus* Nutt.) в условиях острого иммобилизационно-болевого стресса.

В работе А.Н. Евстропова и соавт. (2004) показано интерфероногенное и иммуностимулирующее действие водорастворимого полифенольного комплекса из пятилистника кустарникового. Водный экстракт растения повышал антителообразующую активность клеток селезенки мышей, иммунизированных эритроцитами барана, и стимулировал клеточный иммунный ответ.

В опытах *in vitro* выявлено дозозависимое влияние полифенольных комплексов календулы лекарственной (*Caléndula officinális*), крапивы двудомной (*Urtíca dióica*) и рябины обыкновенной (*Sórbus aucupária*) на индуцированный синтез цитокинов и иммуноглобулинов. Культивирование митогенстимулированных мононуклеарных клеток с полифенольным комплексом календулы в дозе 500 мкг/мл приводило к снижению синтеза интерлейкина (IL)-2, интерферона- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), IgM и IgG, тогда как в дозе 50 мкг/мл не влияло на данные показатели. Аналогичное действие наблюдали при применении полифенольных соединений (ПС) крапивы. Однако инкубация клеток с изучаемыми ПС в дозе 50 мкг/мл вызывала снижение уровня IgG. ПС рябины в обеих концентрациях оказывали выраженное подавляющее действие на выработку IL-2, IFN $\gamma$ , IgM и IgG митогенактивированными клетками. Изучаемые полифенольные комплексы в выбранных концентрациях не влияли на спонтанную и стимулированную продукцию IL-4 (Шукшина, 2014).

Н.В. Масной (2013) установлено, что курсовое введение мышам линии СВА/CaLac полифенольных соединений, полученных из цветков сафлора красильного (*Carthamus tinctorius*), оказывает стимулирующее влияние на гуморальный иммунный ответ и функциональную активность перитонеальных макрофагов в условиях цитостатической иммуносупрессии.

Исследования А.А. Чурина и соавт. (2005) в отношении полифенольного экстракта из бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* Fritsch.) выявили нормализующий эффект препарата на содержание антителообразующих клеток селезенки мышей при иммунодепрессии и стимуляции гуморального иммунитета. Экстракт бадана снижал выраженность воспалительных процессов в условиях реакции гиперчувствительности замедленного типа, препятствуя накоплению Т-лимфоцитов в очаге воспаления и подавляя способность этих клеток продуцировать провоспалительные цитокины.

О.С. Борсук и др. (2011) установили, что курсовое введение мышам полифенольных и полисахаридных соединений, полученных из календулы лекарственной, крапивы двудомной и сафлора красильного, оказывает стимулирующее влияние на гуморальный, клеточный иммунный ответ и неспецифическую резистентность организма, а также способствует коррекции иммуносупрессии, вызванной введением цитостатика циклофосфана.

Также имеются работы, подтверждающие положительное влияние полисахаридов на иммунную систему. Так, например, при исследовании иммуномодулирующей активности полисахаридов из аира болотного (*Acorus calamus* L), астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge), софоры желтоватой (*Sophora flavescens* Soland.), зопника клубненосного (*Phlomoides tuberosa* (L.) Moench), шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis* Georgi), кардамона настоящего (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton), имбиря лекарственного *Zingiber officinale* Roscoe установлено, что данные соединения обладают выраженной эффективностью в отношении гуморального иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии, что выражается в достоверном увеличении количества АОК (Хобракова, 2012).

Основным механизмом действия растительных полисахаридов является усиление и/или активация иммунных реакций макрофагов, включая увеличение выработки активных форм кислорода (АФК) и усиление секреции цитокинов и хемокинов. Поэтому считается, что растительные полисахариды обладают значительным терапевтическим потенциалом и представляют собой новые источники для разработки иммуномодулирующих препаратов (Yin, 2019).

Пектиновые полисахариды, благодаря своеобразному строению главной углеводной цепи и разветвленных областей макромолекулы - галактуронана, обладают широким спектром иммуномодулирующей активности в отношении макрофагального и клеточного звеньев иммунной

системы. В ходе скрининговых исследований было выявлено уникальное свойство пектинов — полипотентность структуры в отношении действия на иммунную систему, что проявляется снижением или повышением иммунной реактивности в зависимости от наличия в пектиновой макромолекуле определенных фрагментов (Попов, 2010).

В исследовании Z. Sun (2015) галактуронан, выделенный из *Celosia cristata*, представлен в качестве иммуностимулятора благодаря фагоцитозу макрофагальных клеток *in vitro*. Кроме того, исследуемый полисахарид способствовал пролиферации клеток путем усиления продукции оксида азота (NO), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкина (IL)-6 и IL-1 $\beta$ .

Результаты исследования J. Yu (2018) показали, что полисахаридный экстракт *Schisandra chinensis* предотвращает вызванное циклофосфаном нарушение клеточного, гуморального и неспецифического иммунитета у мышей.

С.А. Витязевой (2011) доказано иммуномодулирующее свойство арабиногалактана в условиях экспериментального иммунодефицита у животных, вызванного введением *Y. pestis* EV. В ходе эксперимента обнаружено, что арабиногалактан предупреждает истощение бластных форм клеток в костномозговом пуле, стимулирует созревание эритроцитов, гранулоцитов и лимфоцитов, а также нормализует количество зрелых клеток.

Результаты исследования М.Г. Данилец (2010) показывают, что полисахариды аира, мать-и-мачехи, полыни, календулы, девясила и клевера ингибируют продукцию IgE и IgG1 и, как следствие этого, снижают тяжесть анафилактического шока.

Препараты полисахаридов из биомассы *Potamogeton perfoliatus* L. в дозе 0,1 и 1 мг/мл активизировали процесс фагоцитоза, стимулировали активность миелопероксидазы в макрофагах, обладали цитокининдуцирующей активностью (Фомина, 2010).

В работе А.А. Лигачевой (2008) представлено действие полисахаридов полыни горькой, клевера лугового, березы повислой. При курсовом введении

данные вещества стимулировали Th1 тип и подавляли Th2 тип иммунного ответа, снижая тяжесть анафилактического шока и продукцию иммуноглобулинов класса Е и G1 у иммунизированных овальбумином животных. Полисахариды полыни и клевера стимулируют *in vitro* продукцию оксида азота перитонеальными макрофагами, уступая липополисахаридам *E.coli*. Все исследуемые вещества стимулируют продукцию TNF-α мононуклеарами периферической крови человека, полисахариды клевера усиливают продукцию ИЛ-12 перитонеальными макрофагами мышей.

Анализ *in vitro* показал, что водорастворимый полисахарид, выделенный из *Erythronium sibiricum*, способствует пролиферации и фагоцитозу макрофагов, стимулирует выработку оксида азота, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , что свидетельствует о его иммуностимулирующих свойствах (Kasimu, 2017). Подобные результаты получены в работе Ma L. et al. (2019) при изучении полисахаридов из цветков *Paeonia suffruticosa Andr*, а также в работе Qu D (2022) по исследованию характеристик полисахаридов из *Abrus cantoniensis*.

И.А. Балдуевой (2017) исследован препарат «Биобран», иммуномодулятор растительного происхождения, представляющий собой комплекс полисахаридов, основным из которых является арабиноксилан. Данный комплекс способствует увеличению абсолютного содержания NK- и NKT-клеток в периферической крови больных с диссеминированным опухолевым процессом на фоне активной специфической иммунотерапии во 2-й и последующих линиях лекарственного лечения.

Пектиновый полисахарид из зеленых листьев бадана бергенан ВС вызывает *in vivo* усиление гуморального иммунитета, *in vitro* - клеточного. Введение мышам бергенана ВС приводит к увеличению реакции гиперчувствительности замедленного типа. В клеточной культуре он увеличивает активность нейтрофилов, генерацию кислородных радикалов перитонеальными макрофагами и повышение спонтанной адгезии лейкоцитов (Popov, 2007).

В работе А.А. Фоминой (2014) представлены данные об иммуномодулирующих свойствах полисахаридов травы рдеста пронзеннолистного (*Potamogeton perfoliatus* L.) за счет стимуляции фагоцитоза, активности миелопероксидазы в макрофагах, цитокининдуцирующей активности моноцитов в условиях циклофосфановой иммуносупрессии.

В опытах на мышах линии СВА в условиях индуцированного азатиоприном иммунодефицита установлена иммуномодулирующая активность фракций (полисахаридная, этилацетатная, хлороформная, бутанольная), полученных из надземной части горечавки холодной - *Gentiana algida* Pall., в отношении клеточно-опосредованного и гуморального иммунного ответа (Будаева, 2015). Кроме того, показано иммуномодулирующее действие ориентина, гентиопикрозида и олеаноловой кислоты, выделенных из *Gentiana algida*, при экспериментальном иммунодефиците (Хобракова В.Б., Будаева Е.Р., 2018).

В исследовании L.W. Cherry (2022) доказано иммунотропное действие тритерпена гликозида кукумариозида A2-2, выделенного из *Cicutaria japonica*, за счет активации клеточного иммунитета. Данный эффект достигался за счет выраженного взаимодействия тритерпена с пуринергическими рецепторами P2X4 на мембранах мышиных макрофагов и улучшения обратимой АТФ-зависимой сигнализации  $\text{Ca}^{2+}$ .

Экдистероиды - (от греч. *exdysis* - линька) группа полигидроксилированных стероидных соединений, обладающих активностью гормонов линьки и метаморфоза насекомых. Впервые экдизон был получен в кристаллическом виде в 1954 г. (Матолинец, 2020). Но до конца механизм их действия не изучен. Вероятнее всего, у экдистероидов отсутствуют специфические механизмы стимуляции иммунокомпетентных клеток, поскольку, являясь природными, они реализуют свою биологическую активность через экдистероид ассоциированные рецепторные комплексы (Bajguz, 2015) В исследовании M. Bhardwaj (2019) доказано, что  $\alpha$ -экдизон

является мощным иммуностимулятором, который повышает устойчивость мембран, активность лизосомальных ферментов и генерирует супероксидные анионы. Одновременно  $\alpha$ -экдизон снижает уровни оксида азота, провоспалительных медиаторов и цитокинов. Кроме того,  $\alpha$ -экдизон увеличивает выработку HO-1 и ядерного фактора, связанного с эритроидным фактором 2 (Nrf2), уменьшает белки субъединицы NF- $\kappa$ B в ядре и снижает активацию MAPKs и Akt. Кроме того, фитоэкдистероиды способствуют ферментативным и неферментативным системам антиоксидантной защиты, уменьшая активные формы кислорода в виде супероксидных, гидроксильных радикалов и снижая содержание малонового диальдегида (Arif, 2022).

W. Peschel et al (2011) установлено влияние 20-гидроксиэкдизона и экстракта *Leuzea carthamoides* (Willd.) на активацию ядерного транскрипционного фактора (NF- $\kappa$ B), являющегося центральным звеном иммунных реакций через возможность активации генов, кодирующих регуляторы апоптоза и клеточной пролиферации. 20-гидроксиэкдизон ингибировал активацию NF- $\kappa$ B ( $IC_{50}$  31,8 mM), но был менее активен, чем другие растительные метаболиты (ксантогумол 3,8 mM, витаферин А 1,4 mM). Экстракты левзеи с высоким содержанием 20-гидроксиэкдизона обладали выраженным активирующим эффектом, но, напротив, некоторые экстракты с низким содержанием данного вещества значительно ингибировали активацию NF- $\kappa$ B при  $IC_{50}$  в диапазоне от 3,5 до 6,2 мкг/мл. Экстракты, но не сам 20-гидроксиэкдизон, показали значительную модуляцию ингибирующего NF- $\kappa$ B эффекта дексаметазона.

Суммарные экдистероидсодержащие препараты из *Silene brahuica* и *Ajuga turkestanica* при введении мышам одновременно с иммунизацией их эритроцитами барана стимулируют процесс первичного антителообразования, существенно увеличивая в селезенке количество антителообразующих клеток. Под действием исследуемых препаратов также достоверно возрастают клеточность центральных и периферических органов иммунитета, содержание эритроцитов и лейкоцитов в крови. Достаточно

четкое иммуностимулирующее действие обоих экдистероидсодержащих препаратов проявляется и в модельных опытах, воспроизводящих состояние вторичных иммунодефицитов (острый токсический гепатит, облучение в сублетальной дозе). По своей активности суммарные экдистероидсодержащие препараты из *Silene brahuica* и *Ajuga turkestanica* во всех проведенных экспериментах проявили более выраженный эффект, чем взятый для сравнения препарат «Иммунал» (Шахмуррова, 2013).

В работе M.B. Figueiredo (2006) описано стимулирующее действие на фагоцитарные реакции экдизона *in vivo* и *in vitro* при пероральном его введении насекомым.

#### 1.4. Характеристика *Serratula marginata* Tausch

Серпуха окаймленная – *Serratula marginata* Tausch (семейство *Asteraceae*), многолетнее травянистое растение высотой 15—70 см. Листья сизые, цельные, реже крупнозубчатые или перистолопастные, сидячие. Корзинка одиночная. Листочки обертки на верхушке бурые или темно-бурые с бурой каймой по краям. Венчик лилово-розовый. Семянка тонкоребристая, желто-бурая. Мезоксерофит. Произрастает на пологих каменистых оstepненных склонах, сложенных карбонатными породами. Цветет в июле. Плодоносит в августе. Медоносное, декоративное растение. В природных условиях это растение встречается на территории Алтайского края, Кемеровской, Иркутской областях, Китая (Конспект флоры..., 2008; Определитель растений Бурятии, 2001; Романова, 2016), произрастает повсеместно в Сибири, Забайкалье и Монголии (Мунхжаргал, 2007).

Использование растений рода *Serratula* практиковалось еще в древней китайской, монгольской и тибетской медицине; извлечения из растений применяются при неврозах и эпилепсии, как средства при воспалительных и инфекционных заболеваниях (диспепсия, фарингит, тонзиллит и др.) (Абышева, 2001; Воробьева, 2006). Экспериментальное исследование экстрактов из надземной части серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.)

показало их эффективность в качестве противоизвенных средств, а также способность усиливать эффективность цитостатиков в терапии злокачественных опухолей (Ангаскиева, 2003). Установлено адаптогенное, ноотропное, антиоксидантное свойства экстракта сухого серпухи васильковой (*Serratula centauroides* L.) (Свиридов, 2016; Разуваева и др., 2021; Маркова и др., 2022; Shantanova et al., 2021). Уникальная биологическая активность растений рода *Serratula* определяется за счет комплекса веществ, входящих в их состав, среди которых идентифицированы: эндистероиды, полисахариды, тритерpenовые сапонины, флавоноиды, макро- и микроэлементы. Основными действующими веществами растений рода *Serratula* являются эндистероиды, обладающие значительной биологической активностью, в том числе, иммуномодулирующими свойствами (Мунхжаргал и др., 2007; Растительные ресурсы России..., 2013; Shakhmurova, 2018; Shantanova et al., 2021).

В Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН получен экстракт сухой из надземной части серпухи окаймленной (*Serratula marginata* Tausch). В литературе отсутствуют сведения о фармакологической активности *S. marginata*. Высокая эффективность извлечений, полученных из растений рода *Serratula*, аргументирует целесообразность исследований полученного экстракта из *S. marginata* с последующей разработкой нового иммуномодулирующего средства.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с широким распространением иммунодефицитных состояний и ограниченным перечнем лекарственных средств для их коррекции, поиск и изучение эффективных и безопасных иммуномодуляторов, полученных из лекарственных растений, является актуальной задачей современной медицины.

Исследования по изучению иммуномодулирующих свойств растительных средств носят, как правило, скрининговый характер. Методы

оценки их иммуномодулирующего действия, используемые разными авторами, не одинаковы, а результаты исследований - не однозначны. Мало изучено иммунокорригирующее действие фитосредств в условиях иммунодефицита; до конца не выясненными остаются механизмы их действия.

Таким образом, в качестве перспективного источника для создания нового эффективного и безопасного иммуномодулирующего средства может служить серпуха окаймленная - *Serratula marginata* Tausch. В её состав входят полисахариды, флавоноиды, экдистероиды, гидроксикоричные кислоты, обладающие выраженным иммуномодулирующими свойствами.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1. Экспериментальные животные

Исследования выполнены на 140 мышах линии СВА, 780 мышах-гибридах F1 (CBAxC57B1/6), 20 мышах Balb/C массой 20-22 г из питомника РАМН Столбовая, а также 190 белых крысах *Wistar* обоего пола с исходной массой 180-200 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (GLP) и приказом МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Эксперименты проводились в соответствии с приказом МЗ РФ № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» от 19.06.2003 и «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей». Экспериментальная апробация и протокол исследования одобрен этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол №3 от 04.11.2019 г.). Для эксперимента отбирали животных, которые соответствовали критериям включения в эксперимент, по принципу рандомизации они были разделены на группы по полу, возрасту, весу. Животных выводили из эксперимента путем дислокации шейных позвонков под легким эфирным наркозом.

### 2.2. Воспроизведение экспериментального иммунодефицита

Иммуносупрессию вызывали циклофосфамидом. Для этого использовали препарат «Циклофосфан-ЛЭНС» (ООО «ВЕРОФАРМ», лекарственная форма – лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения во флаконах), путем однократного внутрибрюшинного введения в максимально переносимой дозе 250 мг/кг в объеме 1,0 мл/мышь (Масная Н.В. и др., 2011).

### 2.3. Характеристика объектов исследования

Объектами исследований служили экстракт сухой из надземной части *Serratula marginata* Tausch и полученные из него индивидуальные соединения: флавоноид лютеолин-7-*O*-глюкуронид, полисахарид арабино-3,6-галактан и эндистероид 20-гидроксиэндизон. Траву *S. marginata* собирали в окрестностях с. Мухоршибирь (Мухоршибирский район, Республика Бурятия), высушивали в конвекционной печи при 45°C до значения влажности не более 5%. Экстракт сухой *S. marginata* получен в лаборатории медико-биологических исследований Института общей и экспериментальной биологии СО РАН в результате последовательной экстракции измельченного сырья 60% этианолом и водой и концентрирования извлечения досуха (выход 23% от массы воздушно-сухого сырья). В результате анализа пяти партий экстракта в нем обнаружено присутствие следующих соединений (от массы сухого экстракта): эндистероиды – 20-гидроксиэндизон 1.4–1.6%, полиподин В 0.2–0.3%, эндизон 0.01–0.02%, 2-дезокси-20-гидроксиэндизон 0.01–0.02%; флавоноиды – лютеолин-7-*O*-глюкуронид 5.2–5.4%, апигенин-7-*O*-глюкуронид 0.2–0.3%, лютеолин 0.1–0.2%, апигенин 0.05–0.07%; гидроксициннаматы – 4-*O*-кофеилхинная кислота 0.4–0.6%, 5-*O*-кофеилхинная кислота 1.5–1.7%, 1,3-ди-*O*-кофеилхинная кислота 0.2–0.3%, кофейная кислота 0.05–0.07%; полисахариды 5.7–5.9%. Стандартизацию экстракта сухого осуществляли методом ВЭЖХ по содержанию 20-гидроксиэндизона (не менее 1%). В результате хроматографического разделения экстракта *S. marginata* были выделены лютеолин-7-*O*-глюкуронид (чистота 94%), арабино-3,6-галактан (содержание углеводов 96%) и 20-гидроксиэндизон (чистота 95%).

Полученный экстракт сухой *S. marginata* вводили животным в виде водного раствора. По результатам экспериментальных исследований зависимости «доза-эффект» с использованием доз от 50 до 350 мг/кг была установлена экспериментально-терапевтическая доза 100 мг/кг при введении его *per os* мышам, а также условно-терапевтические дозы индивидуальных

веществ, выделенных из *S. marginata*, исходя из процентного содержания их в экстракте: лютеолин-7-*O*-глюкуронид – 5 мг/кг (из расчета 5% в экстракте), арабино-3,6-галактан – 7 мг/кг (из расчета 7% в экстракте), 20-гидроксиэкдизон - 1 мг/кг (из расчета 1% в экстракте) путем внутрижелудочного введения зондом 1 раз в сутки на протяжении 14 дней. Для сравнения был выбран препарат «Эхинацея» - эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea*) травы экстракт (ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия). Данный препарат вводили экспериментальным животным перорально 1 раз в сутки в виде водного раствора в изоэффективной дозе 200 мг/кг в течение 14 дней. В интактную группу были включены мыши того же возраста, массы, пола, которые получали воду очищенную в соответствующем объеме по аналогичной схеме. Контрольная группа животных с иммунодефицитом получала эквивалентный объем воды очищенной по аналогичной схеме.

#### 2.4. Методы исследований

##### Определение острой токсичности

Острую токсичность определяли по методу Кербера (Руководство..., 2012) однократным внутрибрюшинным введением экстракта в дозах от 250 до 1750 мг/кг с шагом 250 мг. Испытуемые дозы вводили в виде раствора, конечный объем составлял 1.0 мл/100 г. массы животного, растворитель - дистиллированная вода. В течение 14 дней наблюдали за поведением и общим состоянием мышей. По оценке выживаемости мышей и по рассчитанной среднесмертельной дозе определяли острую токсичность. В соответствии с классификацией К.К. Сидорова (1973) был установлен класс токсичности.

##### Определение массы и числа ядросодержащих клеток

##### органов иммунной системы

У мышей, выведенных из эксперимента путем дислокации шейных позвонков, извлекали тимус и селезенку. Полученные органы взвешивали на

торсионных весах и рассчитывали отношение их массы к массе тела мыши в %. Лимфоидные органы гомогенизировали в среде 199 для определения клеточности. Полученную суспензию клеток фильтровали через нейлоновый фильтр и промывали 3 раза центрифугированием при 200 g в течение 5 минут. Для освобождения суспензии от сопутствующих эритроцитов 20 мкл клеточной суспензии помещали в 3% раствор уксусной кислоты. Далее подсчитывали концентрацию ядроодержащих клеток (ЯСК) в органе и в относительных величинах по отношению к массе органа. Подсчеты Подсчет ядерных клеток (ЯСК) проводили путем введения полученного раствора в камеру Горяева. (Руководство..., 2012).

#### Методы по оценке клеточного иммунитета

##### Реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)

По стандартной местной методике локальной ГЗТ мышей сенсибилизовали корпскулярным тимусзависимым антигеном с последующим введением дискриминирующей дозы эритроцитов барана (ЭБ) для воспроизведения реакции ГЗТ (Руководство..., 2012).

Мышей сенсибилизовали внутрибрюшинной инъекцией 0,1% суспензии ЭБ в физиологическом растворе. На 4-е сутки в заднюю лапу под подошвенный апоневроз вводили разрешающую дозу антигена - 50 мкл 50% взвеси ЭБ. В контралатеральную лапу вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 часа сразу после забоя обе лапки отрезались по голеностопному суставу и реакцию ГЗТ оценивали по разнице в массы опытной (Ро) и контрольной (Рс) лапок. Индекс реакции (ИР) вычисляли по формуле:

$$\text{ИР} = \frac{\text{Р}_o - \text{Р}_k}{\text{Р}_k} \times 100\%$$

$$\text{P}_k$$

### Реакция «трансплантат против хозяина»

Состояние клеточного иммунитета также оценивали при реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) по В.Т. Тессеневу (1979). Этот иммунологический феномен был использован для оценки реактивности лимфоидных клеток реципиента по отношению к антигенам трансплантата донорских клеток. Толерантность реципиента к инъецированным клеткам, иммунологическая компетентность трансплантированных клеток и антигенные различия между донорскими и реципиентными клетками являются важными условиями индукции РТПХ. Указанное состояние возникает, когда лимфоидные клетки одной из родительских линий вводятся гибридам F1.

У взрослых гибридов F1 (СВАхС57В1/6) локальную форму РТПХ индуцировали путем переноса клеток лимфатических узлов мышей линии СВА под кожу стопы задней лапки. В качестве контроля мышам-реципиентам вводили сингенные лимфоциты под кожу контралатеральной лапки. Количество вводимых сингенных и полуаллогенных клеток лимфатических узлов составило  $1 \times 10^6$  в 0,02 мл среды 199. Реципиентов умерщвляли путем дислокации шейных позвонков через 7 дней после переноса суспензии клеток и удаляли подколенные лимфатические узлы. Критерием выраженности реакции служило увеличение клеточного состава регионарного лимфатического узла.

Интенсивность реакции выражали в виде индекса реакции (ИР), рассчитываемого как частное от деления числа клеток регионарных лимфатических узлов (выделенных из конечности, в которую вводили суспензию спленоцитов) на число клеток контралатерального лимфатического узла. При значении индекса выше 1,2 разница по сравнению с контролем считалась достоверной.

Интенсивность реакции выражали величиной индекса реакции (ИР), рассчитанного как частное от деления числа клеток регионарного лимфоузла (выделенного из конечности, в которую вводили взвесь спленоцитов) на

число клеток контрлатерального лимфоузла. При индексе выше 1,2 отличие от контроля считалось достоверным.

### Метод по оценке гуморального иммунитета

#### Метод определения антителообразующих клеток (АОК)

По методу N. Jerne, A. Nordin (1963), модифицированному A.J. Cunningham (1965), определяли количество АОК. В основе метода лежит способность антиэритроцитарных антител, секретируемых АОК иммунизированных животных, лизировать ЭБ в присутствии комплемента. Если клетки-антителопродуценты находятся в монослое эритроцитов, то в месте их расположения формируются прозрачные сферические зоны локального гемолиза — бляшки.

Иммунизацию мышей проводили путем внутрибрюшинного введения в дозе  $2 \times 10^8$  клеток на мышь. На 5-е сутки после иммунизации ставили реакцию. Из извлеченной селезенки готовили клеточную суспензию с помощью стеклянного гомогенизатора. Суспендирование проводили в растворе Хенкса в объеме 5 мл на холоде. Непосредственно перед постановкой реакции, из равных объемов суспензии лимфоидных клеток (1 селезенка гомогенизирована в 5 мл среды), ЭБ (10%) и комплемента (1:5) готовили смесь. В приготовленные заранее камеры из двух предметных стекол, соединенных между собой по краям парафином, вводили полученную смесь, с учетом входящего объема суспензии. Заполненные раствором камеры помещали в термостат на 1 час при температуре 37°C, после чего с помощью лупы проводили подсчет количества зон гемолиза — бляшек, по всей камере. Реакцию считали количеством АОК на 1 селезенку и на  $10^6$  клеток с ядрами.

Формула для определения абсолютного числа АОК на селезенку:

Число АОК на селезенку =  $\frac{n \times A \times B \times C}{V}$

n - число зон гемолиза,

A - доля лимфоидных клеток в смеси лимфоциты: ЭБ: комплемент

B - объем суспензии

C - степень разведения лимфоцитов

V - объем камеры

Формула для определения числа АОК на  $10^6$  спленоцитов:

Число АОК на = абсолютное число АОК на селезенку

$10^6$  спленоцитов      количество клеток на селезенку

Методы по оценке функциональной активности фагоцитов

#### Фагоцитоз перитонеальных макрофагов (ПМ)

Фагоцитарную активность исследовали с помощью модели макрофагов перитонеального экссудата. При внутрибрюшинном введении животным 2 мл суспензии коллоидной туши в физиологическом растворе индуцировалось образование интактных перитонеальных макрофагов. Через 10 минут брюшную полость мышей, забитых путем дислокации шейных позвонков, промывали 5 мл физиологического раствора NaCl. После этого клетки осаждали центрифугированием, удаляли супернатант и осадок клеток лизировали водой для инъекций. Оптическую плотность лизата клеток перитонеального экссудата измеряли на спектрофотометре «CECIL-2011» при длине волны 620 нм и определяли светопоглощение, пропорциональное количеству туши, поглощенной перитонеальными фагоцитами (Руководство... 2012).

#### Антигенпрезентирующая функция макрофагов

Исследование антигенпрезентирующей функции макрофагов проводили согласно методическим рекомендациям (Имельбаева, 1996).

Метод клеточного переноса является важной моделью для изучения роли макрофагов в индукции синтеза антител. Показано, что клетки перитонеального экссудата, содержащие около 80-85 % фагоцитирующих моноцитов, после захвата антигена способны индуцировать иммунный ответ

к ЭБ в сингенном организме. При этом динамика накопления АОК соответствует динамике развития этого процесса в условиях иммунизации нативным антигеном.

Экспериментальным животным вводили внутрибрюшно ЭБ в дозе  $2 \times 10^7$  клеток на 1 кг массы тела. Через 2 часа получали из них «примиrowанные» перитонеальные макрофаги. Клетки отмывали, полученную суспензию макрофагов вводили интактным животным в количестве  $6 \times 10^6$  клеток в 1 мл физиологического раствора NaCl. На 5-е сутки после переноса макрофагов оценивали иммунный ответ по числу АОК в селезенке.

### Морфометрический метод исследования микроанатомии тимуса и селезенки

Для проведения патоморфологических исследований тимуса и селезенки на 16 сутки исследования животных декапитировали под эфирным наркозом; тимус и селезенку извлекали для проведения патоморфологических исследований. Фиксированные в 10% растворе формалина иммунные органы подвергали стандартной гистологической проводке для получения парафиновых срезов (Коржевский, Гиляров, 2010). Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также азур II-эозином. Морфометрическую оценку проводили с помощью программного обеспечения «ZEN 2012» (Германия) на микроскопе «Axio LAB.A1» (Германия). На гистологических срезах тимуса измеряли площади дольки, коркового и мозгового вещества. По данным показателям вычисляли относительную площадь коркового и мозгового вещества, а также корково-мозговой индекс (отношение площади коркового вещества к площади мозгового вещества). В субкапсулярной зоне и средних слоях коркового вещества подсчитывали плотность клеток, а также оценивали клеточный состав, подсчитывая число эпителиоретикулоцитов, лимфобластов, больших, средних и малых лимфоцитов, клеток с фигурами митоза, деструктивно

измененных клеток и макрофагов. На микропрепаратах селезенки определяли площадь белой и красной пульпы и вычисляли их относительные значения.

Методы по определению интенсивности процессов перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной защиты организма

Влияние экстракта сухого на процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и на состояние эндогенной антиоксидантной системы в условиях индуцированного иммунодефицита оценивали путем определения в гомогенате селезенки животных концентрации продукта перекисного окисления липидов, малонового диальдегида (МДА) (Камышников, 2017), активности каталазы (Королюк, 1988), супероксиддисмутазы (СОД) (Chevari, 1985) и содержания восстановленного глутатиона (ВГ) (Shaik, 2006).

Мемраностабилизирующую активность испытуемого средства оценивали с использованием метода перекисного и осмотического гемолиза 1%-ной суспензии эритроцитов донорской крови (Ковалев, 1986). Перекисный гемолиз эритроцитов вызывали реагентом Фентона, компоненты которого были использованы в минимальных концентрациях, вызывающих 100% лизис эритроцитов:  $\text{Fe}^{2+}\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,01 мг/мл (в пересчете на 100% раствор перекиси водорода). Экстракт сухой исследовали в конечных концентрациях 0,002; 0,01; 0,09; 1,0; 9,8 и 98,4 мкг/мл, соответствующих экспериментально-терапевтическим дозам. В качестве вещества сравнения использовали аскорбиновую кислоту (Sigma Aldrich, USA). Для получения полного гемолиза, во все пробы с реакционной смесью, вносили 8 % (масса/объем) раствор додецилсульфата натрия (контроль). Мемраностабилизирующее действие экстракта *S. marginata* выражали в процентах по отношению к контролю. Рассчитывали концентрацию исследуемого экстракта, необходимую для ингибирования гемолиза на 50 % ( $\text{IC}_{50}$ ).

Принадлежность исходных данных к выборке из нормальной генеральной совокупности была подтверждена методом Шапиро-Уилка. В дальнейшем статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ «Biostat-2006» с использованием *t*-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

#### Оценка пролиферативной активности Т- и В-лимфоцитов

Для оценки пролиферативной активности использовался колориметрический метод, основанный на способности митохондриальных ферментов живых клеток восстанавливать тетразолиевую соль МТТ (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) до МТТ-формазана (Mossman T.R., 1983). Выделение мононуклеаров из селезенки мышей осуществляли путем щадящей гомогенизации в RPMI-1640 (Thermo Fisher Scientific, США) с осмотическим лизисом эритроцитов в растворе 0,15 М хлорида аммония. Выделенные лимфоидные клетки культивировали при 37 °C, 100% влажности и 5% CO<sub>2</sub> в RPMI-1640 с добавлением 10% инактивированной фетальной телячьей сыворотки (Thermo Fisher Scientific, США), пенициллина (100 ЕД/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) («полная среда») в 96-луночных круглодонных планшетах для культур клеток (Corning Costar, США). Для активации Т-клеток использовали конканавалин А (КоА, PanEco LLC, Россия) в конечной концентрации 15 мкг/мл, для В-клеток - липополисахарид в конечной концентрации 10 мкг/мл соответственно.

Суспензию спленоцитов ( $5 \times 10^6$  клеток/мл) в «полной среде» культивировали в 96-луночных плоскодонных планшетах для культур клеток с добавлением митогенов при 37 °C, 100% влажности и 5% CO<sub>2</sub>. Через 24 ч добавляли экстракт сухой *Serratula marginata* в исследуемых концентрациях и дополнительно культивировали в течение 24 ч. За 4 ч до окончания инкубации в каждую лунку добавляли 20 мкл 0,5% раствора МТТ. Затем среду удаляли и в каждую лунку добавляли 100 мкл ДМСО для растворения

частиц формазана. Оптическую плотность измеряли при 492 нм с использованием микропланшетного фотометра Immunochem 2100 (USA). Результат выражали в процентах к контролю.

#### Статистическая обработка данных

Обработку полученных результатов исследования проводили по общепринятым статистическим методам для малой выборки, определяя среднюю величину ( $M$ ) и ошибку ( $m$ ). Достоверность результатов исследования оценивалась по параметрическому критерию  $t$ -Стьюдента. При вероятности 95% ( $P \leq 0,05$ ) различия между контрольными и опытными данными считались достоверными (Сергиенко, Бондарева, 2006).

## ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА *SERRATULA MARGINATA* НА СОСТОЯНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ У ИНТАКТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Острая токсичность экстракта сухого *S. marginata* исследовалась на мышах гибридах F<sub>1</sub> путем однократного внутрибрюшинного введения средства в дозах: от 250 до 1750 мг/кг с шагом в 250 мг. Внутрижелудочно испытуемые дозы вводились в виде раствора через зонд, конечный объем составлял 1,0 мл/100 г. массы животного, растворитель - дистиллированная вода. В течение 14 дней осуществлялось наблюдение за поведением, общим состоянием мышей. В ходе эксперимента было установлено, что при однократном внутрибрюшинном введении экстракта *S. marginata* DL<sub>50</sub> составила 982,36 мг/кг. При внутрижелудочном введении высоких доз экстракта выше 1750 мг/кг в течение всего времени наблюдения особенно остро проявлялись признаки общей интоксикации, в первые 2 суток животные были малоподвижны, шерсть становилась взъерошенной, отмечалось снижение потребления корма и учащение дыхания, однако, гибели животных в течение 14 суток не наблюдалось. Так, по классификации К.К. Сидорова (1973), экстракт *S. marginata* можно отнести к группе малотоксичных веществ.

С целью выявления возможного дозозависимого действия экстракта *S. marginata* были проведены опыты по влиянию испытуемого средства в дозах 50, 100 и 300 мг/кг на гуморальное и клеточное звенья иммунной системы при иммунодефиците, вызванном циклофосфамидом. В ходе исследования установлено, что экстракт *S. marginata* в дозах 50 и 300 мг/кг повышал абсолютное количество АОК в 1,1 и 1,4 раза по сравнению с контрольной группой животных, получавших цитостатик циклофосфамид, а под влиянием исследуемого средства в дозе 100 мг/кг, этот показатель увеличился в 1,5 раза. При изучении влияния экстракта на клеточное звено, было установлено, что доза 50 и 300 мг/кг вызывала незначительное увеличение индекса реакции ГЗТ в 1,1 и в 1,2 раза соответственно, напротив

дозы в 100 мг/кг, которая приводила к увеличению показателя в 1,7 раза. На основании полученных данных в последующих экспериментах оценивали влияние экстракта *S. marginata* на состояние иммунной системы организма при использовании экспериментально-терапевтической дозы 100 мг/кг.

**Влияние экстракта *Serratula marginata***  
**на массу и клеточность иммунных органов мышей**

Эксперименты выполнены на гибридных мышах F1 обоего пола массой 20-22 г. Экстракт *S. marginata* вводили внутривенночерез зонд один раз в сутки в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг в течение 14 дней. Препарат сравнения «Эхинацея» вводили ежедневно в изоэфективной дозе 200 мг/кг в течение 14 дней. Интактная группа животных получала воду очищенную по аналогичной схеме. Полученные результаты по влиянию экстракта *S. marginata* на относительную массу и клеточность центральных (тимус) и периферических (селезенка) органов иммунной системы приведены в табл. 3.1.

Таблица 3.1. – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на массу и клеточность иммунных органов мышей

Группы животных	Тимус		Селезенка	
	Относительная масса, %	ЯСК, $\times 10^6/\text{орган}$	Относительная масса, %	ЯСК, $\times 10^6/\text{орган}$
Интактная n=10	$0,12 \pm 0,007$	$35,6 \pm 1,51$	$0,73 \pm 0,052$	$276 \pm 8,7$
Опытная 1 (экстракт <i>S.marginata</i> ),n=10	$0,11 \pm 0,009$	$37,1 \pm 1,92$	$0,71 \pm 0,037$	$271 \pm 18,04$
Опытная 2 («Эхинацея»), n=10	$0,12 \pm 0,009$	$35,1 \pm 2,14$	$0,77 \pm 0,046$	$284 \pm 6,9$

Примечание: здесь и далее n - число животных в каждой группе.

Влияние экстракта *S. marginata* на функциональное состояние  
основных звеньев системы иммунитета

При изучении влияния экстракта *S. marginata* и препарата сравнения «Эхинацея» на абсолютное количество АОК и количество АОК на  $10^6$  спленоцитов было обнаружено, что эти вещества не оказывали существенного влияния на процессы выработки антител в сравнении с результатами интактной группы (таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на антителообразование

Группы животных	Абсолютное число АОК на селезенку	Число АОК на $10^6$ спленоцитов
Интактная, n=10	$64542 \pm 2163$	$249.7 \pm 16.38$
Опытная 1 (экстракт <i>S.marginata</i> n=10	$74745 \pm 3397$	$287.1 \pm 22.72$
Опытная 2 («Эхинацея»), n=10	$75965 \pm 5088$	$306.7 \pm 21.11$

При оценке результатов по влиянию исследуемого средства на параметры клеточного иммунитета было установлено, что экстракт *S. marginata* и препарат «Эхинацея» существенно не изменяют клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ по сравнению с интактной группой (табл. 3.3).

Таблица 3.3. – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа

Группы животных	ИР ГЗТ, %
Интактная, n=10	$58.63 \pm 1.34$
Опытная 1 (экстракт <i>S.marginata</i> ), n=10	$60.52 \pm 2.87$
Опытная 2 («Эхинацея»), n=10	$55.69 \pm 2.68$

При изучении фагоцитарной активности перitoneальных макрофагов в отношении коллоидных частиц туши установлено, что экстракт *S. marginata* и препарат сравнения «Эхинацея» в экспериментально-терапевтических дозах 100 мг/кг и 200 мг/кг не оказывал как стимулирующего, так и ингибирующего действия на фагоцитарный индекс по сравнению с группой интактных животных (таблица 3.4).

Таблица 3.4 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на фагоцитарную активность перitoneальных макрофагов

Группы животных	Оптическая плотность, усл.ед.
Интактная, n=10	0,359±0,024
Опытная 1 (экстракт <i>S.marginata</i> ), n=10	0,367±0,023
Опытная 2 («Эхинацея»), n=10	0,361±0,021

В МТТ-тесте оценивали влияние экстракта *S. marginata* на пролиферацию активированных лимфоцитов. Лимфоциты активировали митогенами: ЛПС – для В-лимфоцитов, КонА – для Т-лимфоцитов. Источником лимфоцитов в экспериментах служили спленоциты мышей линии Balb/c, которые стимулировали добавлением митогенов в течение 24 ч до воздействия экстрактом *S. marginata*. Таким образом, изучаемый экстракт добавляли к предварительно активированным лимфоцитам.

На рисунке 1 представлены результаты 24-часовой экспозиции митоген-активированных спленоцитов с экстрактом *S. marginata* в диапазоне концентраций 1 – 100 мкг/мл.

Как показано на рисунке 1, добавление изучаемого агента не приводило к значимому изменению пролиферации ЛПС-активированных спленоцитов ни в одной из изучаемых концентраций. Следует отметить, что наблюдалась статистически не значимая тенденция к увеличению

пролиферации по сравнению с контрольными значениями. Так, экстракт *S. marginata* в концентрации 100 мкг/мл способствовал увеличению показателя на 9%.

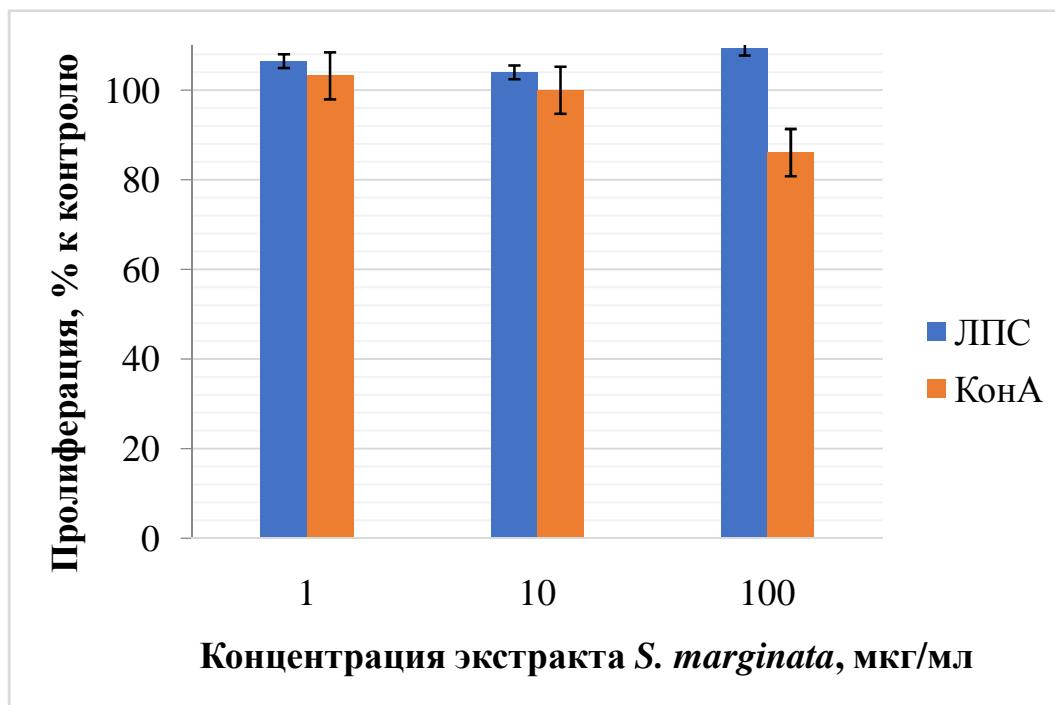


Рисунок 1 – Влияние экстракта *S. marginata* (24 ч экспозиции) на пролиферацию ЛПС- и КонА-активированных спленоцитов мышей Balb/C *in vitro*. Уровень 100% соответствует контролльному значению.

Добавление экстракта *S. marginata* к КонА-стимулированным спленоцитам не вызывало увеличение пролиферации клеток. В концентрации 100 мкг/мл экстракт *S. marginata* снижал пролиферацию КонА-активированных клеток на 14%, тогда как в концентрациях 1 и 10 мкг/мл показатели были сравнимы с контролем.

## ГЛАВА 4. ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСТРАКТА *SERRATULA MARGINATA* ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЦИКЛОФОСФАМИДОМ

### 4.1. Оценка влияния экстракта *Serratula marginata* на массу и клеточность иммунных органов мышей при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Исследования проведены на мышах гибридах F<sub>1</sub> (СВА x С57Bl/6) массой 20-22 г. Модель иммунодефицита воспроизводили путем введения внутрибрюшинно однократно максимально переносимой дозы циклофосфамида. Со следующего дня после введения циклофосфамида вводили экстракт *S. marginata* в дозе 100 мг/кг и препарат сравнения «Эхинацея» в дозе 200 мг/кг внутрижелудочно через зонд 1 раз в сутки в течение 14 дней. Интактная группа животных получала очищенную воду по аналогичной схеме.

Введение циклофосфамида в дозе 250 мг/кг приводило к достоверному снижению относительных масс тимуса и селезенки на 67% и 52% и уменьшению клеточности тимуса и селезенки на 30% и 36%, соответственно, по сравнению с данными интактной группы. Курсовое введение экстракта *S. marginata* в дозе 100 мг/кг показало достоверное увеличение относительной массы тимуса и селезенки в 1,8 и 1,9 раза соответственно по сравнению с контрольной группой. Под влиянием экстракта так же наблюдалось увеличение ядроодержащих клеток тимуса и селезенки в 1,3 и 1,8 раза, соответственно, по сравнению с результатами в группах животных, получавших только циклофосфамид. При изучении влияния препарата «Эхинацея» на относительную массу иммунокомпетентных органов отмечено, что масса тимуса и селезенки увеличилась в 2,0 и 1,8 раза, а клеточность тимуса и селезенки в 1,2 и 1,7 раза, соответственно, по сравнению с данными в контрольной группе животных.

Таблица 4.1.1 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на массу и клеточность иммунных органов мышей в условиях иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Группы животных	Тимус		Селезенка	
	Относительная масса, %	ЯСК, $\times 10^6/\text{орган}$	Относительная масса, %	ЯСК, $\times 10^6/\text{орган}$
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	0,14 ± 0,005	38,6 ± 2,77	0,73 ± 0,050	59,1±1,8
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n=10	0,06 ± 0,003*	27,2 ± 1,95*	0,35 ± 0,028*	37,9±3,5*
Опытная 1 (Циклофосфамид + экстракт <i>S.marginata</i> ), n=10	0,11± 0,009**	36,1 ± 2,87**	0,67 ± 0,059**	68,1±0,54**
Опытная 2 (Циклофосфамид+ «Эхинацея»), n=10	0,12±0,010**	33,1 ± 3,01**	0,65±0,031**	66,0±1,03**

Примечание: \* – различия достоверны при  $p \leq 0,05$  по сравнению с данными в интактной группе, \*\* - по сравнению с данными в контрольной группе, число животных в каждой группе (n=10).

Таким образом, проведенные исследования показывают, что экстракт *Serratula marginata* и референтный препарат «Эхинацея» на фоне иммунодефицита, индуцированного циклофосфамидом, восстанавливают массу и количество ядроодержащих клеток иммунных органов – тимуса и селезенки.

**4.2. Исследование влияния экстракта *Serratula marginata* на состояние гуморального звена иммунного ответа при иммунодефиците, индуцированном циклофосфамидом**

При оценке влияния экстракта *S. marginata* на выработку антител в условиях иммуносупрессии циклофосфамидом установлено, что данное средство восстанавливает показатели гуморального иммунного ответа. В контрольной группе животных, получавших циклофосфамид, абсолютное и относительное количество АОК уменьшилось на 31,7% и 22,9% соответственно по сравнению с интактной группой (таблица 4.2.1).

Таблица 4.2.1 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на антителообразование при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Группы животных	Абсолютное число АОК на селезенку	Число АОК на $10^6$ спленоцитов
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	$61608 \pm 2065$	$238,35 \pm 16,38$
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n = 10	$40269 \pm 3052^*$	$172,2 \pm 10,9^*$
Опытная 1 (Циклофосфамид+ экстракт <i>S. marginata</i> ), n = 10	$71347 \pm 3028^{**}$	$274,1 \pm 22,78^{**}$
Опытная 2 (Циклофосфамид + «Эхинацея»), n = 10	$64588 \pm 1810^{**}$	$336,7 \pm 8,55^{**}$

Введение экстракта *S. marginata* на фоне экспериментальной иммуносупрессии достоверно повышало количество АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на  $10^6$  спленоцитов в 1,5 и 1,7 раза соответственно, по сравнению с контрольной группой. В группе животных, получавших препарат «Эхинацея», абсолютное и относительное количество

АОК увеличилось в 1,5 и 1,3 раза соответственно по сравнению с контролем (таблица 4.2.1).

#### 4.3. Оценка воздействия экстракта *Serratula marginata* на состояние клеточного звена иммунного ответа при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Иммунодепрессивное действие циклофосфамида проявлялось угнетением клеточного звена иммунной системы, что выражалось в снижении индекса местной реакции ГЗТ на 27% по сравнению с результатами интактных животных. Курсовое введение экстракта *S. marginata* мышам в состоянии иммунодефицита привело к увеличению ИР ГЗТ в 1,6 раза по сравнению с данными контрольной группы животных (таблица 4.3.1).

При введении мышам препарата сравнения «Эхинацея» наблюдалось аналогичное увеличение этого показателя по сравнению с контролем (таблица 4.3.1).

Таблица 4.3.1 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Группы животных	ИР ГЗТ, %
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	$48,3 \pm 2,54$
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n = 10	$35,29 \pm 1,91^*$
Опытная 1 (Циклофосфамид + экстракт <i>S. marginata</i> ), n = 10	$57,69 \pm 2,43^{**}$
Опытная 2 (Циклофосфамид + «Эхинацея»), n = 10	$53,54 \pm 4,63^{**}$

При введении циклофосфамида наблюдалось угнетение клеточно-опосредованного иммунного ответа «трансплантат против хозяина», что

приводило к уменьшению соотношения клеточного содержания лимфатических узлов контрольной и опытной лапок по сравнению с данными у интактной группы на 33% (таблица 4.3.2).

Таблица 4.3.2 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на выраженность реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Группы животных	Индекс увеличения лимфатических узлов
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	$2,57 \pm 0,12$
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n = 10	$1,72 \pm 0,09^*$
Опытная 1 (Циклофосфамид + экстракт <i>S. marginata</i> ), n = 10	$3,02 \pm 0,12^{**}$
Опытная 2 (Циклофосфамид + «Эхинацея»), n = 10	$2,79 \pm 0,02^{**}$

При применении экстракта *S. marginata* в дозе 100 мг/кг на фоне иммуносупрессии отмечено достоверное повышение индекса увеличения лимфатических узлов в 1,8 раза; препарат «Эхинацея» увеличил этот показатель в 1,6 раза по сравнению с контролем (таблица 4.3.2).

Таким образом, результаты опытов позволили выявить стимулирующее действие экстракта *S. marginata* в дозе 100 мг/кг на течение реакций ГЗТ и РТПХ.

#### 4.4. Изучение фагоцитарной активности макрофагов под действием экстракта *Serratula marginata* при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Изучение фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов по отношению к коллоидным частицам туши показало, что в контрольной группе, получавшей циклофосфамид, наблюдалось снижение фагоцитарного

индекса в 1,4 раза по сравнению с результатами в интактной группе. Установлено, что после введения экстракта *S. marginata* отмечалось повышение фагоцитарного индекса в 1,6 раза по сравнению с контрольной группой, в группе препарата сравнения «Эхинацея» происходило увеличение данного показателя в 1,4 раза по сравнению с контролем (таблица 4.4.1).

Таблица 4.4.1 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей в отношении частиц колloidной туши при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Группы животных	Фагоцитарный индекс, Оптическая плотность, усл.ед.
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	$0,327 \pm 0,022$
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n=10	$0,239 \pm 0,011^*$
Опытная 1 (Циклофосфамид+экстракт <i>S. marginata</i> ), n=10	$0,378 \pm 0,018^{**}$
Опытная 2 (Циклофосфамид + «Эхинацея»), n=10	$0,327 \pm 0,022^{**}$

Трансплантация интактным мышам клеток перитонеального эхссудата от мышей-доноров, иммунизированных ЭБ и получавших циклофосфамид, сопровождалась угнетением гуморального иммунного ответа, что выражалось в уменьшении количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на  $10^6$  спленоцитов в 1,6 и 1,5 раза, соответственно, по сравнению с контролем (таблица 4.2.2).

В серии экспериментов с введением исследуемого экстракта иммунизированным мышам-донорам, подвергшимся воздействию циклофосфамида, и трансплантацией от последних перитонеальных

макрофагов сингенным мышам-реципиентам нарастала выраженность гуморального иммунного ответа, что приводило к увеличению абсолютных и относительных показателей АОК в 1,6 и 1,5 раза по сравнению с группой животных, получавших циклофосфамид.

В группе мышей, получавших «Эхинацею», наблюдалось увеличение абсолютного и относительного числа АОК в среднем в 1,6 раза по сравнению с контролем.

Таблица 4.4.2 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на антигенпрезентирующую функцию макрофагов мышей на фоне циклофосфамида

Группы животных	Количество АОК	
	на селезенку	на $10^6$ спленоцитов
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	50645 ± 2638	394 ± 22
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n=10	31400 ± 1971*	257 ± 14*
Опытная 1 (Циклофосфамид + экстракт <i>S. marginata</i> ), n=10	49343 ± 2115* <sup>2</sup>	393 ± 18* <sup>2</sup>
Опытная 2 (Циклофосфамид + «Эхинацея»), n=10	50554 ± 2487**	411 ± 20**

Таким образом, полученные данные позволяют считать, что в реализации иммуномодулирующих свойств исследуемого экстракта имеет значение стимуляция иммунорегуляторной функции макрофагов.

#### 4.5. Влияние экстракта сухого *Serratula marginata* на морфофункциональное состояние тимуса и селезенки при иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Патоморфологические исследования показали, что на фоне иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом, в тимусе

развиваются структурные изменения в виде отека стромы, гемодинамических нарушений и выраженной инволюции лимфоидной ткани. Так, у животных контрольной группы на 14 сутки после введения цитостатика сохраняется акцидентальная инволюция тимуса, в частности, общая площадь дольки ниже на 39% таковой у животных интактной группы (таблица 4.5.1). При этом отмечается снижение как абсолютной, так и относительной площади коркового вещества, а также увеличение данных показателей для мозговой области относительно данных в интактной группе, в результате этого корково-мозговой индекс на 24% ниже такового у интактных животных. Паренхима коркового вещества выглядит более светлой, вследствие снижения плотности тимоцитов как в субкапсулярной зоне (на 21 %), так и в глубоких слоях коры (на 29%) по сравнению с данными в группе интактных животных. Также в корковом веществе визуализируются значительные области опустошения. Снижение плотности клеток в корковом слое обусловлено ингибированием пролиферативной активности тимоцитов, а также усилением в них деструктивных процессов, приводящих к их гибели. Цитологическое исследование клеточного состава субкапсулярной области и глубоких слоев кортикальной зоны показало, что на фоне введения цитостатика снижается количество бластов (на 80 и 54 %), больших лимфоцитов (в среднем на 72 %) и клеток, находящихся на стадии митоза (в 6,0 и 2,3 раза соответственно), относительно таковых у животных интактной группы (рисунок 2).

Количество деструктивных клеток в контроле составляет 2,9-3,4%, против 0,5-0,8% в интакте; количество макрофагов повышается в 2,3-2,8 раза относительно данных в интактной группе. Введение цитостатика оказывает влияние на клетки стромы; так, в корковой области отмечается увеличение эпителиоретикулоцитов, при этом в глубоких слоях на 27%, а в субкапсулярной области – в 2,3 раза, что, вероятно, обусловлено снижением плотности тимоцитов. Мозговое вещество тимуса у животных контрольной группы имеет более интенсивную окраску, чем у интактных животных, в

результате увеличения плотности клеток. Граница между корковым и мозговым слоями нечеткая, что характеризуется как «инверсия слоев» (рисунок 3). При этом в мозговом слое наблюдается резкое снижение количества эпителиальных телец, что также свидетельствует о снижении функциональной активности органа.

Таблица 4.5.1 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на морфометрические показатели тимуса мышей при иммunoисупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Показатели	Интактная (H <sub>2</sub> O), n=10	Контрольная (Циклофосфамид + H <sub>2</sub> O), n=10	Опытная (Циклофосфамид + <i>S. marginata</i> ), n=10
S дольки, мм <sup>2</sup>	18,9±2,83	11,5±0,94*	14,7±1,02**
S коркового вещества, мм <sup>2</sup>	11,9±1,04	7,5±0,54*	10,5±0,72**
S мозгового вещества, мм <sup>2</sup>	5,5±0,76	4,0 ±0,53	4,3±0,45
S коркового вещества, %	71,0±2,30	68,5±1,40	69,4±1,85
S мозгового вещества, %	28,9±2,24	31,5±1,40	30,6±1,85
Корково-мозговой индекс	2,6±0,21	1,9±0,22	2,4±0,21
Плотность тимоцитов в субкапсулярном зоне, n/ 15000мкн <sup>2</sup>	372,8±16,57	295,1±21,03	332,5±11,7
Плотность тимоцитов в глубоких слоях коркового вещества, 15000мкн <sup>2</sup>	428,6±28,34	304,3±8,52	375,3±15,21**

Примечание: \* – различия достоверны при  $p \leq 0,05$  по сравнению с данными в интактной группе, \*\* – по сравнению с данными в контрольной группе, n – число животных в группе.

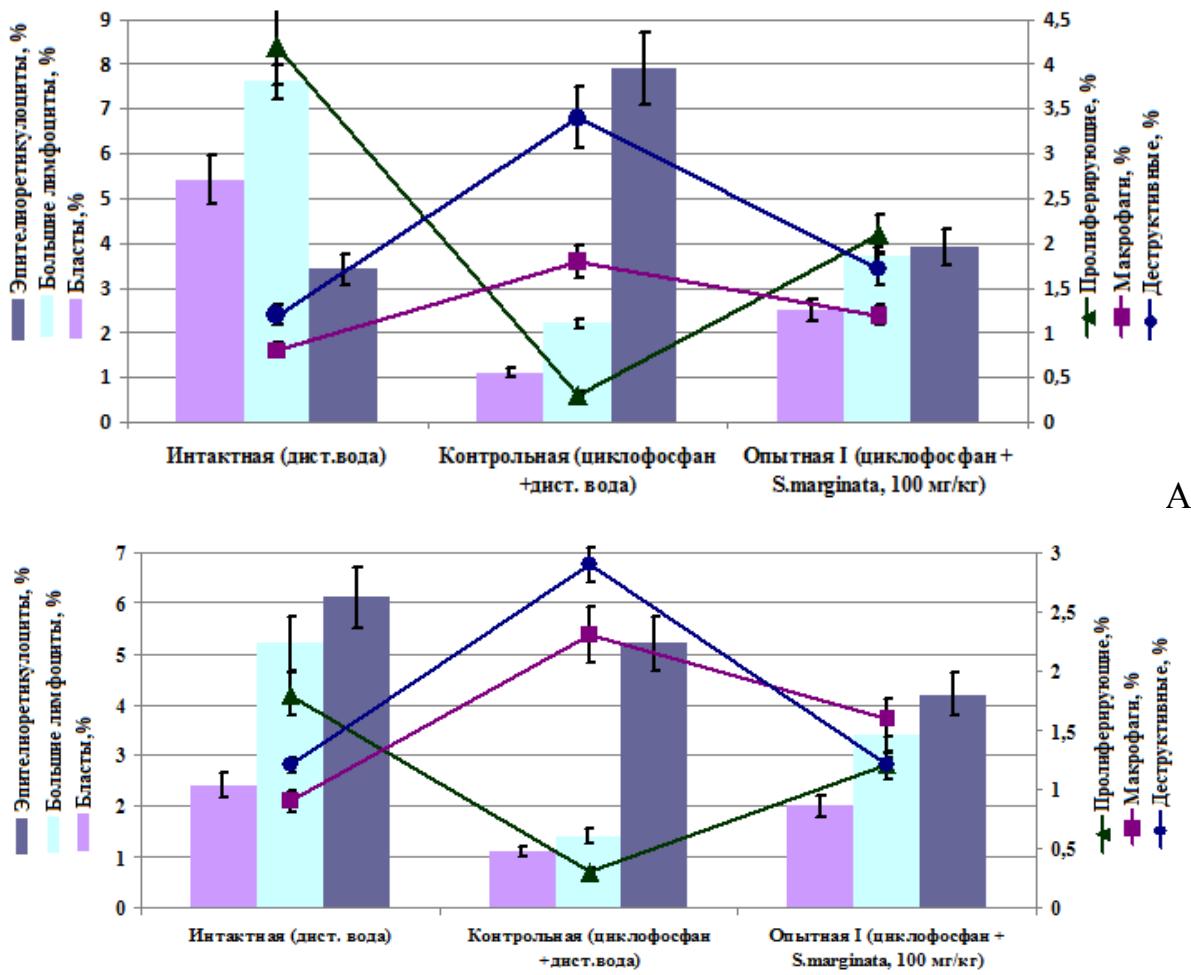


Рисунок 2 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на клеточный состав коркового вещества тимуса мышей при иммunoисупрессии, индуцированной циклофосфамидом: А – субкапсулярная зона; Б – средние слои

Курсовое введение животным экстракта сухого *S. marginata* способствует ограничению структурных изменений в тимусе и более быстрому восстановлению органа после акцидентальной инволюции. На 16 сутки наблюдения у животных опытной группы наблюдается умеренный отек стромы и капсулы, нарушения со стороны микроциркуляции не выявляются. На фоне введения исследуемого средства площадь коркового вещества повышается на 39%, площадь мозгового вещества снижается на 8%, в результате чего корково-медуллярный индекс увеличивается на 26% и общая площадь тимуса – на 28% по сравнению с показателями контрольных животных (таблица 4.5.1). Анализ клеточного состава коркового вещества

показал, что у животных, получавших экстракт *S. marginata*, в субкапсуллярной зоне и средних слоях коркового вещества увеличивается количество митотически делящихся клеток (в 7,0 и 4,0 раза), бластов (в 2,3 и 1,8 раза) и больших лимфоцитов (в 1,7 и 2,4 раза), а также уменьшается число клеток со структурными нарушениями (в 2,0 и 1,6 раза) и макрофагов (на 33 и 30% соответственно) по сравнению с показателями животных контрольной группы. Ограничение деструктивно-дистрофических изменений в цитоплазме тимоцитов, и как следствие некроза клеток, а также усиление их пролиферативной активности способствуют повышению плотности лимфоцитов в корковом веществе на 13-23% по сравнению с показателем контрольных животных (рисунок 4). Между корковой и мозговой зонами присутствует цветовой контраст, корково-мозговая граница четко дифференцируется (рисунок 4). В мозговом слое увеличивается число эпителиоретикулярных телец.

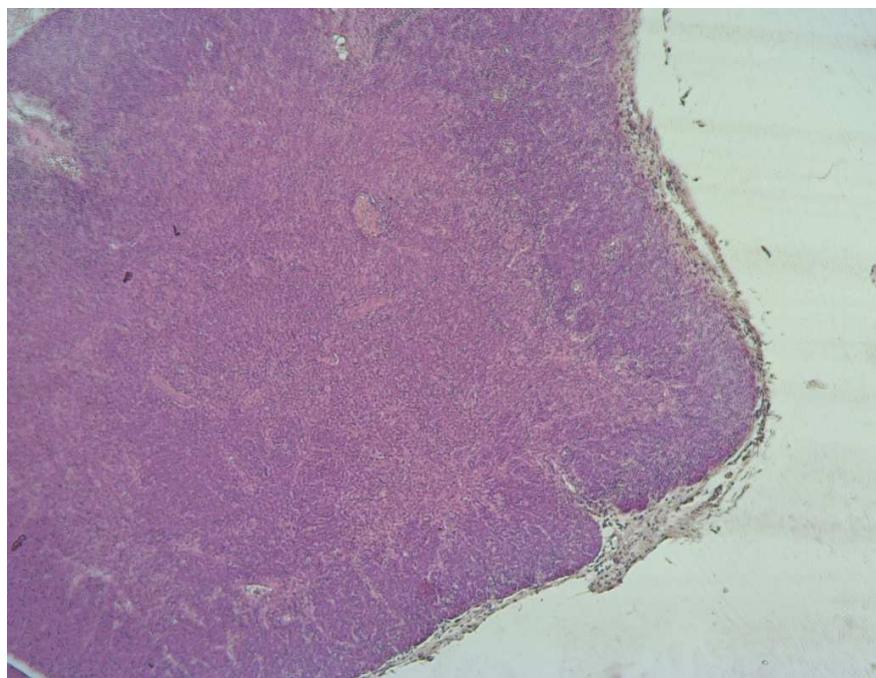


Рисунок 3 – Тимус мыши на фоне введения циклофосфамида. Наблюдается разволокнение капсулы органа, кровенаполнение сосудов. Кортико-медуллярная граница выглядит «размытой», отмечается «инверсия слоев». Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: ок. 10, об. 5

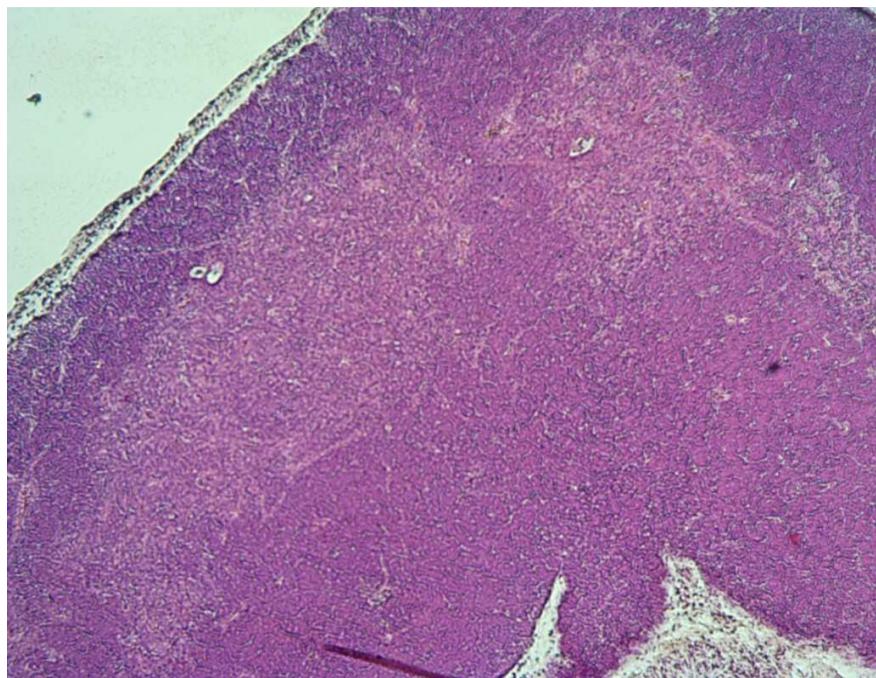


Рисунок 4 – Тимус мыши, получавшей экстракт сухой *S. marginata*, на фоне введения циклофосфамида. Четкое разграничение коркового и мозгового слоев. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: ок. 10, об. 5

Результаты морфометрических исследований показали, что у животных интактной группы белая пульпа составляет  $29,4 \pm 2,96\%$  от общей площади органа (рисунок 5).

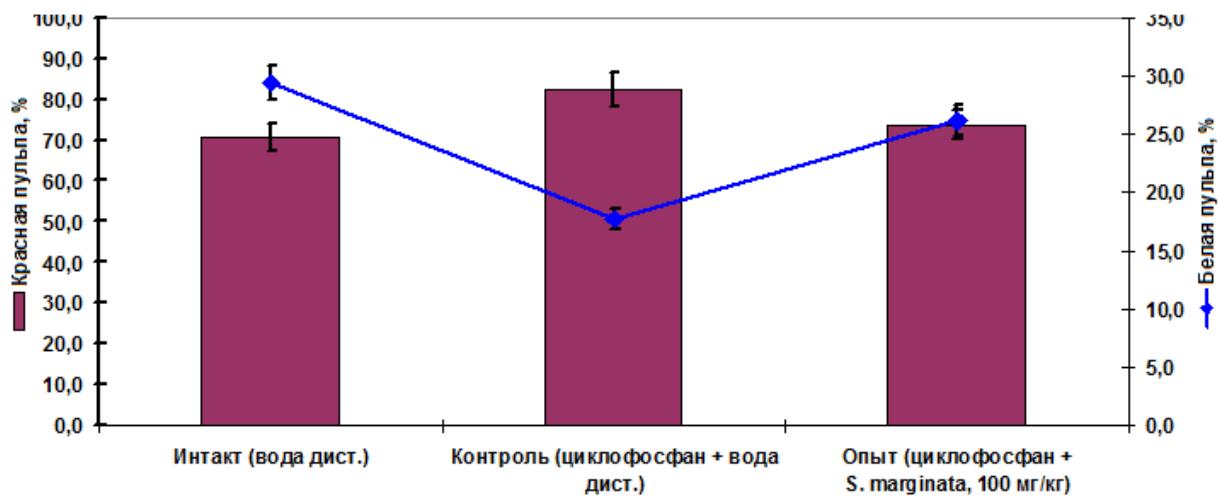


Рисунок 5 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на морфометрические показатели селезенки при иммuno supрессии, индуцированной циклофосфамидом

Лимфоидные фолликулы в большинстве случаев имеют эллипсоидную форму и в них наблюдается четкое разграничение Т- и В-зон. Вокруг центральной артерии формируется периартериальная муфта, на периферии которой располагается герминативный центр, окруженные интенсивно окрашенной мантией и далее маргинальной зоной (рисунок 6).

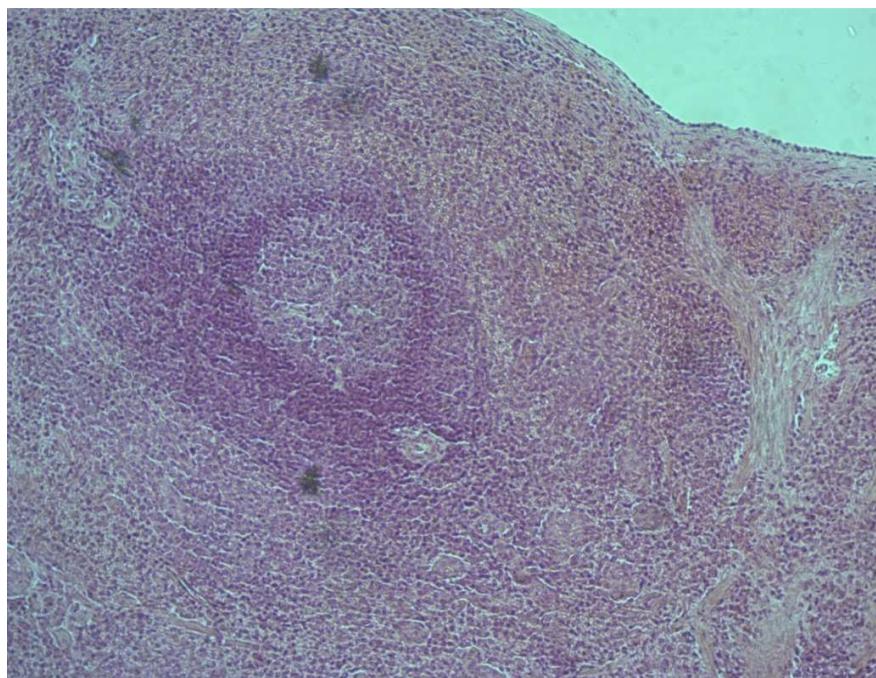


Рисунок 6 – Селезенка мыши интактной группы. Фиброзная капсула, от которой отходят соединительнотканые трабекулы, пронизывающие паренхиму органа, состоящую из красной и белой пульпы. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: ок. 10, об. 10

Введение циклоfosфамида способствует развитию морфофункциональных изменений в паренхиме селезенки, которые были более выражены в белой пульпе. В красной пульпе наблюдаются гемодинамические нарушения и выраженная макрофагальная реакция. В белой пульпе помимо нарушений со стороны микроциркуляторного русла отмечаются выраженные инволютивные изменения, характеризующиеся снижением плотности клеток и уменьшением ее объема относительно общего объема органа (рисунок 7). Так, у животных контрольной группы относительный объем белой пульпы составил  $17,6 \pm 1,38\%$ , что ниже в 1,7 раза

показателя у интактных животных (рисунок 5). Лимфоидные фолликулы имеют в большинстве случаев неправильную форму, более светлую окраску, из-за опустошения мантийной зоны и периартериальной лимфоидной муфты. Вторичные фолликулы не отмечаются ни у одного животного контрольной группы.

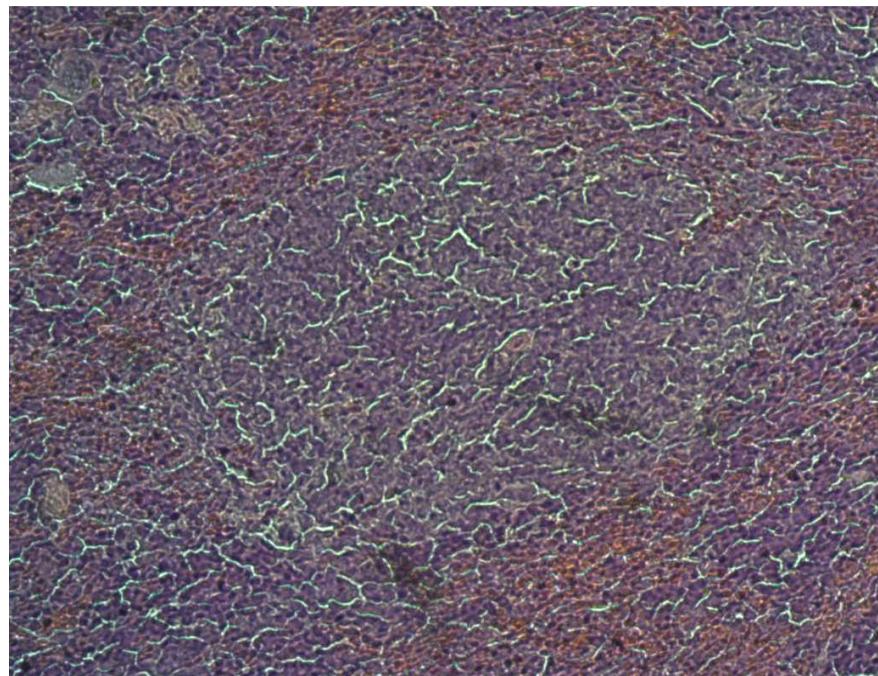


Рисунок 7 – Селезенка мыши на фоне введения циклофосфамида. Фолликул не имеет центр размножения. Кровенаполнение сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: ок. 10, об. 20

Введение животным экстракта сухого *S. marginata* ограничивает развитие иволютивных изменений в селезенке, развивающихся на фоне циклофосфамида. Так, у животных опытных групп площадь белой пульпы составляет  $26,1 \pm 2,42$ , что выше на 47% ( $p \leq 0,05$ ) таковой в контроле. В лимфоидных узелках отмечаются герминативные центры; периартериальная лимфоидная муфта и мантийная зона становятся более интенсивно окрашенными, вследствие пролиферации и дифференцировки лимфоцитов (рисунок 8).

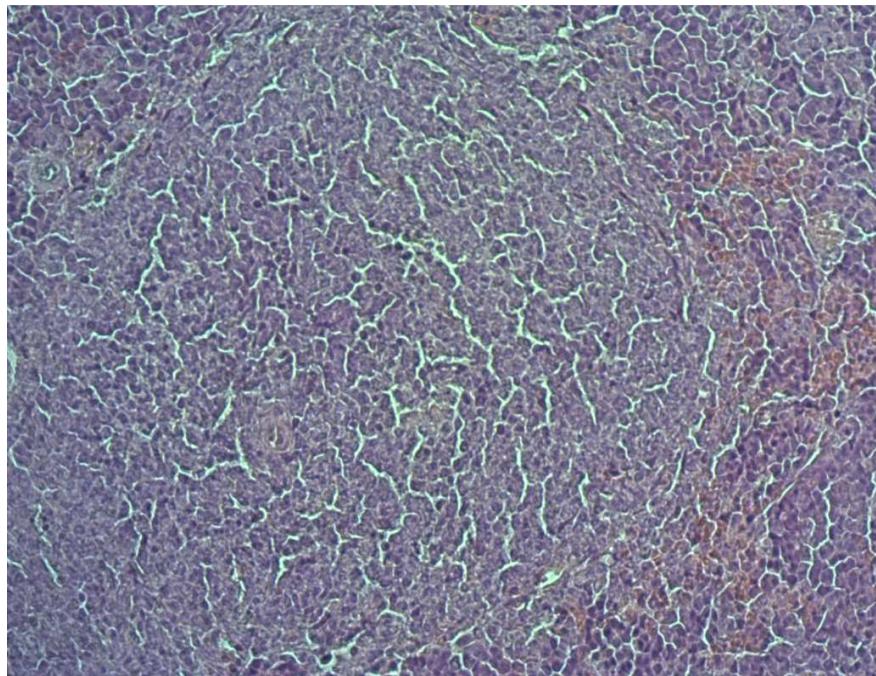


Рисунок 8 – Селезенка мыши, получавшей экстракт сухой *S. marginata*, на фоне введения циклофосфамида. Окраска гематоксилином и эозином.  
Увеличение: ок. 10, об. 20

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что применение экстракта сухого *S. marginata* ограничивает развитие инволютивных процессов в тимусе и селезенке, вызванных введением цитостатика циклофосфамида.

#### 4.6. Определение антиоксидантных свойств экстракта сухого *Serratula marginata* Tausch при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии

Поскольку оксидативный стресс является одним из важнейших патогенетических механизмов повреждения мембран иммунокомпетентных клеток, представляло интерес исследовать влияние экстракта сухого *S. marginata* на состояние эндогенной антиоксидантной системы и процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) при циклофосфамид-индуцированном иммунодефиците. Антиоксидантную активность экстракта *S. marginata* оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА), активности каталазы и супероксиддисмутазы (СОД), а также по содержанию

восстановленного глутатиона (ВГ) в селезенке при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии.

В ходе эксперимента установлено, что введение циклофосфамида вызывает выраженную индукцию перекисного окисления липидов, о чем свидетельствует увеличение содержания МДА в гомогенате селезенки в 2,1 раза по сравнению с данными в интактной группе. Введение животным опытной группы экстракта *S. marginata* на фоне иммуносупрессии значительно уменьшало выраженность окислительного стресса и способствовало корректированию дисбаланса между про- и антиоксидантной системами организма. Так, содержание МДА в гомогенате селезенки белых крыс, получавших исследуемый экстракт, снижалось в 1,7 раза ( $p\leq 0,05$ ) (таблица 4.6.1).

Таблица 4.6.1 – Влияние экстракта сухого *S. marginata* на состояние антиоксидантной системы при экспериментальной иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом

Группы животных	МДА, мкмоль/ г ткани	СОД, мкмоль/мин/ мг белка	Катализ, ммоль/мин/ г ткани	ВГ, мкмоль/ г ткани
Интактная ( $H_2O$ ), $n=10$	$57,42\pm4,12$	$51,10\pm3,21$	$35,23\pm2,11$	$325,10\pm10,22$
Контрольная (циклофосфамид+ $H_2O$ ), $n=10$	$120,41\pm7,20^*$	$22,23\pm1,14^*$	$14,12\pm0,53^*$	$163,22\pm10,11^*$
Опытная (циклофосфамид + <i>S. marginata</i> ), $n=10$	$70,34\pm6,71^{**}$	$39,12\pm0,33^{**}$	$26,61\pm1,14^{**}$	$252,13\pm12,14^{**}$

Примечание:  $n$  – количество животных в группе, \* - разница существенна по сравнению с данными в интактной группе, \*\* – по сравнению с данными в контрольной группе.

Одним из факторов усиления процессов ПОЛ является угнетение активности эндогенной антиоксидантной системы (АОС) организма. Так, в контрольной группе животных отмечалось снижение активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и снижение содержания ВГ в 2,3; 2,5 и 2,0 раза соответственно по сравнению с интактом. В группе крыс, получавших исследуемый экстракт, активность СОД, каталазы и содержание ВГ увеличилось в 1,8; 1,9 и 1,5 раза соответственно по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе животных. Выявленные изменения в функционировании эндогенной антиокислительной системы указывают на наличие антиоксидантных свойств экстракта *S. marginata* при экспериментальном иммунодефиците, что является одним из важных аспектов иммунопротекторного действия исследуемого фитосредства. Антиоксидантное действие экстракта сухого *S. marginata* превосходило таковое препарата сравнения «Эхинацея».

С целью определения молекулярных и клеточных механизмов иммуномодулирующего действия экстракта *S. marginata*, была проведена оценка его антирадикальной активности и мембраностабилизирующих свойств в модельных системах *in vitro*.

При внесении в инкубационную среду исследуемого экстракта в его конечных концентрациях: 85,14; 9,50; 0,90; 0,06 и 0,0025 мкг/мл отмечалось снижение интенсивности перекисного гемолиза эритроцитов. Концентрация экстракта *S. marginata*, снижающая интенсивность перекисного гемолиза на 50%, составила 0,045 мкг/мл. (таблица 4.6.2).

Выявленный мембраностабилизирующий эффект экстракта *S. marginata* обусловлен наличием в его составе фенольных соединений - флавоноидов и эcdистероидов, обладающих антиоксидантной активностью (Bathori, 2004; Panche et al., 2016; Olennikov, 2018; Das et al., 2020).

Таблица 4.6.2.– Влияние экстракта сухого *S. marginata* на перекисный гемолиз эритроцитов в модельной системе

Условия опыта	Концентрация, мкг/мл	Перекисный гемолиз, %
Er/m + <i>S. marginata</i>	85,14	21,10 ± 1,22
	9,50	27,11 ± 1,25
	0,90	31,20 ± 1,44
	0,06	43,22 ± 2,32
	0,006	67,40 ± 3,31
	0,0025	85,13 ± 3,42
	IC <sub>50</sub> , мкг/мл	0,045 ± 0,003
Er/m + аскорбиновая кислота <sup>a</sup>	0,45	20,11 ± 1,22
	0,085	29,13 ± 2,10
	0,011	51,34 ± 2,12
	0,001	60,03 ± 2,20
	0,0004	69,14 ± 3,10
	IC <sub>50</sub> , мкг/мл	0,018 ± 0,001

Примечание: здесь и в таблице 4.6.3.: <sup>a</sup> – вещество сравнения.

Согласно данным, приведенным в таблице 4.6.3, экстракт *S. marginata* проявляет выраженную антирадикальную активность в отношении стабильного хромоген-радикала DPPH (IC<sub>50</sub> = 52,3 мкг/мл), а также катион-радикала ABTS (IC<sub>50</sub> = 57,1 мкг/мл). При определении способности испытуемого фитосредства связывать супероксидный анион-радикал и ионы металла переменной валентности (Fe<sup>2+</sup>) установлено наличие активности экстракта *S. marginata* в отношении указанных частиц. В эксперименте показано, что исследуемый экстракт обладает Fe<sup>2+</sup>-хелатирующим действием (IC<sub>50</sub> = 267,4 мкг/мл), близким к активности вещества-сравнения - аскорбиновой кислоты (IC<sub>50</sub> = 173,1 мкг/мл). Fe<sup>2+</sup>-связывающая активность *S. marginata* обусловлена содержанием в его составе высокомолекулярных

углеводов (арабиноглюкогалактан) и флавоноидов, что объясняет способность экстракта ингибировать катализируемое железом образование гидроксильного радикала. Выявленная  $\text{Fe}^{2+}$ - связывающая активность согласуется с изученной выше мембраностабилизирующей активностью фитосредства в условиях реакции Фентона.

Экстракт сухой *S. marginata* проявляет активность в отношении связывания  $\text{O}^{2\cdot}$  радикала ( $\text{IC}_{50} = 67,2$  мкг/мл), превосходящее таковое аскорбиновой кислоты, а также оказывает протективное действие по отношению к полипептидам, предупреждая их окисление в модели с желточными липопротеидами ( $\text{Fe (II)/OH}^\cdot$ ) ( $\text{IC}_{50}=620,15$  мкг/мл) (таблица 4.6.3).

Таблица 4.6.3 – Антирадикальная активность экстракта сухого *S. marginata* в модельных системах *in vitro*,  $\text{IC}_{50}$  мкг/мл

Объект	Реакционно-активные молекулы				
	DPPH <sup>·</sup>	ABTS <sup>++</sup>	$\text{O}^{2\cdot}$	Fe (II)	Fe (II)/OH <sup>·</sup>
<i>S.marginata</i>	52,3±3,12	57,1±4,10	67,2±4,41	267,4±7,33	620,15±10,51
АК <sup>a</sup>	7,5±0,53	41,2±1,23	83,5±5,12	173,1±6,11	256,00±9,42
Тролокс <sup>a</sup>	3,2±0,20	27,1±1,54	-	-	

Примечание. <sup>a</sup> – вещество сравнения; АК – аскорбиновая кислота

Полученные в результате эксперимента данные свидетельствуют о том, что экстракт сухой *S. marginata* оказывает антиоксидантное действие, выражющееся в сохранении каталитической активности ферментов и повышении содержания пептидов эндогенной антиоксидантной системы организма. Отмечено, что под влиянием экстракта снижается образование продуктов перекисного окисления липидов - МДА на фоне экспериментальной иммуносупрессии циклофосфамидом. В модельных системах экстракт *S. marginata* проявляет выраженное мембраностабилизирующее действие, стабилизируя структурно-функциональную целостность плазматической мембранны эритроцитов в

условиях гемолиза, а также радикал-связывающую активность в отношении реакционно-активных молекул (DPPH, ABTS,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ).

Выявленное антиоксидантное действие испытуемого экстракта определяется наличием в его составе биологически активных веществ, в частности, флавоноида (лютеолин-7-*O*-глюкуронид), эcdистероида (20-гидроксиэcdизон) и полисахарида (арабино-3,6-галактан), способных стабилизировать и инактивировать реакционно-активные молекулы, ингибировать процессы перекисного окисления липидов, стабилизируя тем самым мембранны клеточных структур.

ГЛАВА 5. ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА  
 ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ *SERRATULA*  
*MARGINATA* TAUSCH, ПРИ ИММУНОДЕПРЕССИИ, ИНДУЦИРОВАННОЙ  
 ЦИКЛОФОСФАМИДОМ

5.1. Оценка воздействия индивидуальных соединений (лютеолина-7-*O*-глюкуронида, арабино-3,6-галактана и 20-гидроксиэкдизона), полученных из *Serratula marginata*, на состояние основных звеньев иммунитета

При изучении влияния индивидуальных соединений из *S. marginata* на гуморальное звено иммунной системы установлено, что данные вещества восстанавливают процессы антителообразования в модели циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии. Введение циклофосфамида приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на  $10^6$  спленоцитов на 35% и 28%, соответственно, по сравнению с теми же показателями в интактной группе (таблица 5.1.1).

При введении 20-гидроксиэкдизона, лютеолина-7-*O*-глюкуронида и арабино-3,6-галактана из надземной части серпухи окаймленной на фоне иммуносупрессии отмечали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на  $10^6$  спленоцитов. В опытной группе 1, получавшей лютеолин-7-*O*-глюкуронид, первый показатель превышал уровень супрессии в 1,9 раза, второй – в 1,8 раза; в опытной группе 2, получавшей арабино-3,6-галактан, первый показатель превышал контрольные значения в 1,9 раза, второй – в 1,7 раза; в опытной группе 3, получавшей 20-гидроксиэкдизон, первый показатель превышал уровень супрессии в 1,5 раза, второй – в 1,4 раза (таблица 5.1.1).

Таблица 5.1.1 – Влияние индивидуальных веществ, полученных из *S. marginata*, на антителообразование при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии

Группы животных	Абсолютное число АОК на селезенку	Число АОК на $10^6$ спленоцитов
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	$61315 \pm 2055$	$237,6 \pm 16,3$
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n=10	$40077 \pm 3038^*$	$172,0 \pm 10,8^*$
Опытная 1 (Циклофосфамид + лютеолин-7- <i>O</i> -глюкуронид), n=10	$68865 \pm 2614^{**}$	$281,1 \pm 18,1^{**}$
Опытная 2 (Циклофосфамид + арабино-3,6-галактан), n=10	$66519 \pm 5619^{**}$	$251,1 \pm 22,7^{**}$
Опытная 3 (Циклофосфамид + 20-гидроксиэcdизон), n=10	$54851 \pm 3406^{**}$	$223,9 \pm 19,2^{**}$

Примечание: здесь и далее \* – различия достоверны при  $p \leq 0,05$  по сравнению с данными в интактной группе, \*\* - по сравнению с данными в контрольной группе, число животных в каждой группе (n=10).

При исследовании влияния индивидуальных веществ на клеточное звено иммунной системы было установлено, что исследуемые вещества восстанавливают индекс клеточно-опосредованной реакции ГЗТ в условиях циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии. Введение циклофосфамида приводило к снижению индекса реакции ГЗТ (ИР ГЗТ) на 26 % по сравнению с тем же показателем в интактной группе (таблица 5.1.2).

После введения животным опытной группы, подвергшимся иммунодепрессии, 20-гидроксиэcdизона, лютеолина-7-*O*-глюкуронида и арабино-3,6-галактана отмечалось увеличение индекса реакции ГЗТ в 1,2, 1,4, 1,5 раза соответственно по сравнению с данными в контрольной группе животных соответственно.

Таблица 5.1.2 – Влияние индивидуальных веществ, полученных из *Serratula marginata*, на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии

Группы животных	ИР ГЗТ, %
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	$55,7 \pm 1,25$
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n=10	$40,92 \pm 0,9^*$
Опытная 1 (Циклофосфамид + лютеолин-7- <i>O</i> -глюкуронид), n=10	$54,15 \pm 3,5^{**}$
Опытная 2 (Циклофосфамид + арабино-3,6-галактан), n=10	$56,22 \pm 1,25^{**}$
Опытная 3 (Циклофосфамид + 20-гидроксиэкдизон), n=10	$51,06 \pm 1,9^{**}$

При оценке влияния индивидуальных веществ на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов в отношении частиц колloidной туши было установлено, что наибольшее стимулирующее влияние на данное звено оказывает экдистероид 20-гидроксиэкдизон, увеличивая фагоцитарный индекс в 1,6 раза по сравнению с группой контроля, получавших циклофосфамид; в группе мышей, получавших арабино-3,6-галактан, наблюдалось увеличение индекса в 1,4 раза, и наименьшее стимулирующее влияние отмечалось в группе животных, получавших флавоноид лютеолин-7-*O*-глюкуронид (увеличение в 1,3 раза) (таблица 5.1.3).

Таким образом, полученные нами данные доказывают наличие выраженного иммуномодулирующего действия биологически активных веществ, выделенных из надземной части *S. marginata*: флавоноида лютеолина-7-*O*-глюкуронида, полисахарида арабино-3,6-галактана и экдистероида 20-гидроксиэкдизона, в отношении показателей основных звеньев иммунитета. Наибольшее стимулирующее влияние на клеточный и гуморальный иммунитет оказывают лютеолин-7-*O*-глюкуронид и арабино-3,6-галактан, а на фагоцитоз макрофагов - 20-гидроксиэкдизон.

Таблица 5.1.3 – Влияние индивидуальных веществ, полученных из *S. marginata*, на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов мышей в отношении частиц коллоидной туши при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии

Группы животных	Фагоцитарный индекс, Оптическая плотность, усл.ед.
Интактная ( $H_2O$ ), n=10	$0,262 \pm 0,018$
Контрольная (Циклофосфамид+ $H_2O$ ), n=10	$0,165 \pm 0,004^*$
Опытная 1 (Циклофосфамид + лютеолин-7- <i>O</i> -глюкуронид), n=10	$0,214 \pm 0,013^{**}$
Опытная 2 (Циклофосфамид + арабино-3,6-галактан), n=10	$0,239 \pm 0,065^{**}$
Опытная 3 (Циклофосфамид + 20-гидроксиэкдизон), n=10	$0,265 \pm 0,042^{**}$

## ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Поиск новых лекарственных средств, безопасных и эффективных для лечения и профилактики вторичных иммунодефицитов, является одной из актуальных проблем современной медицины (Самылина, 2010; Митрофанова, 2013; Kumar, 2011; Sultan, 2014). Согласно современным исследованиям в основе патогенеза развития многих заболеваний лежит дисбаланс в иммунной системе организма. Подобные расстройства приводят к более продолжительному течению заболеваний, их частому рецидивированию и хронизации патологического процесса. Применение иммуномодулирующих препаратов, благодаря воздействию на ключевые звенья иммунитета, может повышать эффективность основной терапии и сокращать время излечивания. Особый интерес представляют лекарственные средства растительного происхождения, поскольку они обладают рядом преимуществ перед химическими лекарственными препаратами благодаря большому содержанию биологически активных веществ, которые мягко воздействуют на все органы и системы, легко усвояемы, обладают низкой токсичностью и безопасны при длительном применении (Макарова, 2011; Попов, 2012; Ермоленко, 2014; Удалов, 2014).

В современных реалиях особенно остро стоит проблема импортозамещения, актуальна разработка отечественных фитопрепаратов. В этой связи, заслуживают внимания растения рода Серпуха (*Serratula*), один из представителей которого – серпуха окаймленная (*Serratula marginata* Tausch). Представляет интерес исследовать извлечения из малоизученного вида – серпухи окаймленной на предмет наличия иммуномодулирующих свойств.

Для воспроизведения иммунодефицита в условиях эксперимента для оценки специфической активности экстракта сухого из надземной части *S. marginata* на основные звенья иммунитета был использован классический цитостатик циклоfosфамид.

При изучении иммунотоксических свойств экстракта *S. marginata* испытуемое средство в дозе 100 мг/кг не вызывает изменений иммунитета: массы и числа ядро содержащих клеток тимуса и селезенки мышей, показателей клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунной системы, числа ЛПС- и КонА-активированных лимфоцитов в сравнении с данными у интактных животных.

Подобный результат был получен при изучении растительных лекарственных средств, полученных из астрагала перепончатого (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge), молочая Фишера (*Euphorbia fischeriana* Steud.), каллизии душистой (*Callisia fragrans* (Lindl.) Woods), пятилистника кустарникового (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz), бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch), сабельника болотного (*Comarum palustre* L.), софоры желтоватой (*Sophora flavescens* Soland), ортилии однобокой (*Orthilia secunda* L.), серпухи васильковой (*Serratula centauroides* L.), левзеи одноцветковой (*Rhaponticum uniflorum* L.), якорцев стелющихся (*Tribulus terrestris* L.) (Хобракова, 2008, 2010, 2011, 2015; Tilwari, 2013).

При исследовании иммуномодулирующего действия экстракта *S. marginata* в условиях экспериментального иммунодефицита, индуцированного введением циклофосфамида, выявлено, что применение исследуемого средства достоверно увеличивает массу и число ядро содержащих клеток иммунных органов у животных, а также стимулирует основные звенья иммунной системы. Аналогичные данные получены в исследовании С.В. Дутовой (2017), в котором в условиях экспериментального иммунодефицита при курсовом введении (5 дней) мышам-самкам линии СВА/СаЛас субстанции *Coluria geoides* (Rosaceae) в дозе 50 мг/кг отмечено достоверное увеличение массы селезенки и числа спленоцитов в сравнении с контролем. В работе Noh (2019) по изучению иммуномодулирующих свойств экстракта *Platycodon grandiflorum* на крысах в условиях иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом, показано,

что исследуемый экстракт увеличивает клеточность тимуса и селезенки, повышает уровни воспалительных цитокинов в сыворотке (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2 и IL-12), иммуноглобулинов (IgG и IgA), а также ослабляет вызванное циклофосфамидом повреждение иммунных органов. Наши данные согласуются с результатами A. Guo et al. (2015), которые обнаружили, что экстракт солодки увеличивает Т-клеточность как *in vitro*, так и *in vivo* у мышей с химически – индуцированным колитом благодаря входящим в состав изоликвиритигенину и наргенину.

На фоне экспериментальной иммуносупрессии применение экстракта *S. marginata* у мышей достоверно увеличивало индекс реакции ГЗТ и индекс увеличения лимфатических узлов до уровня показателей в интактной группе животных. Результаты наших исследований согласуются с данными работы Ю.В. Шур (2018), где показано, что водно-этанольный экстракт астрагала лисьего (*Astragalus vulpinus*) уменьшает супрессивное действие циклофосфамида у белых мышей линии Balb/c, нормализуя клеточно-опосредованную иммунную реакцию ГЗТ. Также в работе С.В. Дутовой (2014) показано иммуномодулирующее действие *Coluria geoides*: на стадии разрешения введение животным водной фракции приводит к достоверной стимуляции воспалительной реакции - увеличению индекса воспаления в 2,1 раза.

Схожие данные получены в работе G. Ramadan et al. (2012), в которой доказано иммуномодулирующее действие сухого и водного экстрактов листьев египетского сладкого майорана (*Origanum majorana* L.) у крыс с иммуносупрессией, вызванной циклофосфамидом. Под влиянием данных средств происходило восстановление индекса реакции ГЗТ, массы и клеточности лимфоидных органов.

Наиболее информативным показателем активности гуморального звена иммунитета является определение количества антителообразующих клеток (АОК) в селезенке. Нами показано достоверное увеличение абсолютного и относительного количества АОК в условиях экспериментального

иммунодефицита, индуцированного циклофосфамидом, под влиянием экстракта сухого *S. marginata* в дозе 100 мг/кг. В работе Л.А. Кумышевой и др. (2009) получены схожие результаты при исследовании растительных сборов (состав: листья подорожника большого (*Plantago major* L.), корневища и корни синюхи голубой (*Polemonium caeruleum* L.), цветки ромашки аптечной (*Matricaria recutita* L.), календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.), корневища лапчатки прямостоячей (*Potentilla erecta* L.) и трава тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium* L.), кровохлебки лекарственной (*Sanguisorba officinalis* L.) и девясила высокого (*Inula helenium* L.) на фоне иммуносупрессии, вызванной антибиотиками тетрациклином и гентамицином. В эксперименте K. Rashmi (2017) на крысах при исследовании эффективности неочищенных экстрактов листьев *Barringtonia acutangula* было обнаружено, что пероральное введение водных и метанольных экстрактов листьев *B. acutangula* в течение 14 дней увеличивает титр гемагглютинирующих антител (НА) в дозах 200 мг/кг и 400 мг/кг по сравнению с контрольной группой, получавшей циклофосфамид. Такие же данные получены в исследовании А.Н. Атажанова (2012) в эксперименте на беспородных мышах в условиях вторичного иммунодефицита при остром токсическом гепатите. Применение растительных средств (экстракта штокрозы, экстракта корня солодки) и глицерофита (смеси экстрактов штокрозы и корня солодки) приводило к значительному увеличению количества АОК в селезенке. Подобная активация процесса антителообразования в условиях иммунодефицита, вызванного циклофосфамидом, отмечена в работе Л.П. Коваленко (2008) по оценке иммунокорригирующего действия растительного препарата Тонзилгон Н (состав: корни *Althaeae radix*, цветки *Chamomillae flores*, кора *Quercus cortex*, листья *Juglandis folia*, трава *Equiseti herba*, *Achillea millefotium* и *Taraxaci herba*), а также в исследовании С.В. Дутовой (2014) по влиянию водной и этанольной фракций колюрии гравилатовидной (*Coluria geoides*). Также при изучении иммуномодулирующего действия настойки из корней и

корневищ цимицифуги даурской *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim при экспериментальной азатиоприновой иммуносупрессии показано, что испытуемое средство способно достоверно ослаблять супрессивное действие цитостатика азатиоприна на реакцию ГЗТ и антителогенез (Хобракова, 2019).

Курсовое введение экстракта *S. marginata* в дозе 100 мг/кг оказывало стимулирующее влияние на фагоцитарную активность перitoneальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши. Об этом свидетельствует увеличение фагоцитарного индекса по сравнению с данным показателем в группе контроля. Наши результаты о влиянии экстракта сухого *S. marginata* на функциональную активность перitoneальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши согласуются с данными исследования по оценке иммуномодулирующего действия настойки из корневищ с корнями цимицифуги даурской (*Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim) в отношении макрофагального звена иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии (Гармаев, 2017). A. Parveen et al. (2021) при исследовании иммуномодулирующей активности комбинации из лекарственных растений: *Phyllanthus emblica*, *Tinospora cordifolia* и *Piper nigrum* на мышах Swiss Albino в условиях циклофосфановой иммуносупрессии установлено, что изучаемое средство усиливало фагоцитарную активность перitoneальных макрофагов, подавляло синтез провоспалительных цитокинов. Значительное увеличение фагоцитарной активности было продемонстрировано у мышей, получавших экстракт из *Uncaria perrottetii* в дозе 50 мкг/мл в условиях иммуносупрессии, индуцированной циклофосфаном (Nudo, 2011). В работе W.Ahmad (2018) также показано стимулирующее действие экстракта *Tinospora crispa* на функциональную активность макрофагов.

При исследовании влияния экстракта *S. marginata* на антигенпрезентирующую функцию макрофагов в условиях циклофосфамидиндуцированной иммуносупрессии также установлено его стимулирующее действие. Подобное усиление антигенпрезентирующей функции макрофагов доказано в работе C. Wang et.al. (2017) при исследовании

иммуномодулирующих свойств полисахарида, выделенного из *Epimedium koreanum* Nakai.

Аналогичные результаты по восстановлению нарушенных под влиянием цитостатиков показателей основных звеньев иммунитета (числа АОК, индекса реакции ГЗТ, ФИ) получены в работах И.В. Свиридова (2015) при исследовании иммуномодулирующих свойств экстракта серпухи васильковой (*Serratula centauroides* L.), В.Б. Хобраковой и др. (2017, 2020, 2022) при оценке иммунокорrigирующего действия экстрактов горечавки холодной (*Gentiana algida* Pall.), зопничка клубненосного (*Phlomoides tuberosa* (L.) Moench), смолевки енисейской (*Silene jeniseensis* Willd) и левзеи одноцветковой (*Rhaponticum uniflorum* (L.) DC.) и М.А. Sunil et al. (2019) при изучении иммуномодулирующей активности экстракта акации катеху (*Acacia catechu* L.).

В ходе экспериментов установлено, что применение циклофосфамида вызывает резкие инволютивные изменения в микроанатомии структурных компонентов тимуса и селезенки мышей. Все описанные патоморфологические изменения в тимусе при иммunoсупрессии, индуцированной циклофосфамидом, подтверждаются результатами других исследований, показавших, что на фоне применения циклофосфамида развивается акцидентальная инволюция тимуса, обусловленная усилением процессов апоптоза и некроза тимоцитов, а также ингибированием их пролиферации и дифференцировки (Бобрышева, 2013; Лебединская, 2016; Гайдай и др. 2019). Кроме того, в исследовании Л.М. Меркуловой (2016) при изучении структуры селезенки у крыс в возрасте 3 и 6 месяцев, подвергшихся химическому канцерогенезу, индуцированному 1,2-диметилгидразином, установлено, что канцероген приводит к уменьшению основных морфометрических показателей В- и Т-зависимых зон селезенки. Наши данные согласуются с данными D. Khudhair Hussein Ali (2016) по изучению воздействия цитостатика азатиоприна на морфологию селезенки,

применявшегося в течение 2–4 недель, и вызвавшего не только дегенеративные, но и некротические изменения.

Внутрижелудочное введение опытным животным экстракта *S.marginata* на фоне циклофосфамида восстанавливает морффункциональное состояние тимуса и селезенки, что проявляется в уменьшении деструктивных процессов и восстановлении структурных компонентов органов.

Полученные результаты соответствуют данным других исследований, показавших иммунокорректирующее влияние растительных средств на побочные эффекты цитостатиков. По данным И.А. Гольдиной и соавт. (2020), применение комплекса биофлавоноидов, включающего экстракт корня куркумы, экстракт черного перца, экстракт сои, экстракт листьев зеленого чая, экстракт красного корня, экстракт солодки, экстракт листьев облепихи, ингибирует супрессивное влияние циклофосфамида на спонтанную пролиферативную активность клеток селезенки и митоген-индуцированную пролиферацию тимоцитов. Тriterпеноид милиацин ослабляет цитотоксическое воздействие метотрексата и способствует более быстрому восстановлению морффункционального состояния красного костного мозга и селезенки (Железнova, и др., 2007).

Наши данные согласуются с данными исследования по оценке влияния отвара астрагала перепончатого на структуру тимуса и селезенки при иммунодефиците, в котором отмечено увеличение толщины коркового вещества дольки тимуса, восстановление в селезенке структуры лимфоидных фолликулов (Батоева, 2019). В исследованиях Д.З. Цыреновой (2017) показано, что курсовое применение экстракта *Phlomoides tuberosa* L. Moench при экспериментальном иммунодефиците, индуцированном азатиоприном, приводит к нивелированию супрессивного действия цитостатика: увеличению площади белой пульпы и толщины периартериальной лимфоидной муфты селезенки мышей, а также увеличению диаметра лимфоидных узелков и количества герминативных центров. Доказано

иммуномодулирующее действие экстракта *Gentiana algida* Pall при иммунодефиците, вызванном введением азатиоприна, за счет ограничения развития выраженных инволютивных процессов в вилочковой железе, повышения митотической активности тимоцитов, снижения степени выраженности деструктивных процессов и предотвращения разрастания жировой ткани (Хобракова, 2020).

С целью оценки вклада индивидуальных соединений, содержащихся в экстракте сухом *S.marginata*, в иммуномодулирующий эффект данного средства, нами определено влияние флавоноида лютеолина-7-*O*-глюкуронида, полисахарида арабино-3,6-галактана, эндистероида 20-гидроксиэндизона на состояние основных звеньев иммунного ответа при иммунодепрессии, индуцированной циклофосфамидом. Установлено, что каждое из выделенных соединений экстракта сухого *S.marginata* способно достоверно восстанавливать нарушенные циклофосфамидом показатели основных звеньев иммунитета, при этом лютеолин-7-*O*-глюкуронид и арабино-3,6-галактан обладают наиболее выраженным иммуномодулирующим действием, в большей степени восстанавливая показатели клеточного и гуморального иммунитета; а 20-гидроксиэндизон оказывает преимущественное влияние на функциональную активность макрофагов.

Механизмы влияния эндистероидов на функциональное состояние иммунной системы до конца не изучены; по данным А. Вайгуза (2015) они воздействуют посредством эндистероид ассоциированных рецепторных комплексов.

Наши результаты по оценке влияния 20-гидроксиэндизона на состояние иммунной системы согласуются с данными в работе Н.В. Пунеговой (2009), в которой доказано иммуномодулирующее действие фитоэндистероидов, выделенных из серпухи венценосной *Serratula coronata* (L.). В данном исследовании установлено их стимулирующее действие на гуморальное и клеточное звенья иммунитета, а именно, повышение уровня лизоцима *in vitro*

на 56%, увеличение ферментативной активности сывороточного лизоцима в 7,3 раза, увеличение фагоцитарного индекса в 1,6 раза. В исследованиях Е.Н. Репиной (2007) также выявлено их стимулирующее влияние на фагоцитоз, в частности, повышение фагоцитарной активности клеток крови от 8 до 36% и повышение количества захваченных объектов фагоцитоза от 19 до 80%. В работе M.B. Figueiredo et.al (2006) показано повышение фагоцитарной активности у личинок *Rhodnius prolixus* *in vivo* и *in vitro* под влиянием экдизона. Благодаря содержанию в экстракте *S. marginata* экдистероидов, обладающих выраженными адаптогенными свойствами (Shantanova et al., 2021) и оказывающих положительное влияние не только на гуморальные и клеточные иммунные реакции, но и на факторы неспецифической резистентности организма (фагоцитоз макрофагов), играющие значительную роль на этапах специфического иммунного ответа, обеспечивается стимулирующее влияние испытуемого средства на состояние иммунной системы организма при иммунодепрессии.

В исследованиях A. Ganeshpurkar, A.K.Saluja (2017, 2018) показано схожее иммуномодулирующее влияние флавоноидов рутин и катехина на регуляцию иммунного ответа на экспериментальных моделях животных. Введение рутин, катехина в дозах 25, 50 и 100 мг/кг. вызывало значительное увеличение титра антител в тесте на гемагглютинацию, повышало уровень иммуноглобулинов и усиливало реакцию ГЗТ, вызванную эритроцитами овец. Под их влиянием также происходило значительное восстановление количества лейкоцитов у крыс, получавших циклофосфамид, и увеличение фагоцитарного индекса.

В обзоре N. Yahfoufi et al. (2018) показано, что полифенольные соединения подавляют экспрессию Toll-подобных рецепторов (TLR). Их антиоксидантная активность и способность ингибировать ферменты, участвующие в производстве эйказаноидов, также способствуют их противовоспалительным и иммуномодулирующим свойствам. Они ингибируют определенные ферменты, участвующие в производстве

активных форм кислорода (АФК), такие как ксантиноксидаза и NADPH-оксидаза (NOX).

Модуляция воспалительных цитокинов является одним из многих распространенных механизмов, с помощью которых полифенолы в целом оказывают свое иммуномодулирующее действие (Yahfoufi et al., 2018). Некоторые полифенолы, такие как кверцетин и катехины, оказывают свое влияние на баланс между выработкой про- и противовоспалительных цитокинов; они усиливают высвобождение IL-10, в то время как ингибируют TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$  (Comalada, 2006; Crouvezier, 2011). Такой же механизм действия катехина описан в работе Syed Hussein et al (2015). Катехин ослабляет действие синтазы оксида азота (iNOS) и циклооксигеназы-2 (COX-2). Кроме того, катехин подавляет выработку TNF- $\alpha$  и IL-6, одновременно усиливая IL-4. Катехин ослабляет транслокацию ядерного фактора кB (NF-кB) p65, индуцированную LPS, посредством ингибирования фосфорилирования IкB- $\alpha$ .

В исследовании H. Aysooda (2019) показано стимулирующее влияние флавоноидов на состояние иммунной системы за счет регуляции активности mTOR, снижения функции цитотоксических лимфоцитов и инактивации экспрессии ядерного фактора NF-кB.

Наши данные по оценке влияния лютеолина-7-*O*-глюкуронида на состояние иммунной системы согласуются с результатами работы В.Б. Хобраковой, Д.Н. Оленникова (2012), в которой установлено, что флаваноны софоры желтоватой (куаринон и софорафлаванон G) стимулируют антителообразование и клеточно-опосредованную иммунную реакцию ГЗТ в условиях экспериментального иммунодефицита, индуцированного азатиоприном. В исследовании В.Б. Хобраковой, Д.З. Цыреновой (2017) доказано иммуномодулирующее действие фенилпропаноида (форситозида B, ForB), выделенного из клубней зопника клубненосного (*Phlomoides tuberosa* (L.) Moench) за счет стимуляции клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа при азатиоприновой иммуносупрессии.

В работе Е.Б. Хлебцовой и др. (2014) выявлена выраженная стимуляция индекса реакции ГЗТ флавоноидами, входящими в состав лофанта анисового (*Lophanthus anisatus* Nutt.) на клеточно-опосредованную реакцию иммуногенеза в условиях острого иммобилизационно-болевого стресса. А.Н. Евстроповой и соавт. (2004) также показано иммуностимулирующее действие водорастворимого полифенольного комплекса из пятилистника кустарникового. Водный экстракт растения повышал антителообразующую активность клеток селезенки мышей, иммунизированных эритроцитами барана, и стимулировал клеточный иммунный ответ. Исследования А.А. Чурина с соавт. (2005) в отношении полифенольного экстракта из бадана толстолистного выявили его нормализующий эффект на содержание АОК селезенки мышей при иммунодепрессии и стимуляции гуморального иммунитета. Полифенольный экстракт бадана снижал выраженность воспалительных процессов в условиях реакции ГЗТ, препятствуя накоплению Т-лимфоцитов в очаге воспаления и подавляя способность этих клеток продуцировать провоспалительные цитокины. В работе О.Л. Сайбель (2020) установлено стимулирующее влияние фенольных соединений из цикория обыкновенного (*Cichorium intybus* L.) на гуморальный и клеточный иммунитет при циклофосфановой иммunoсупрессии. Наши данные согласуются с результатами работы Н.В. Масной и др. (2013), где в эксперименте, проведенном на мышах линии СВА/CaLac, показано нормализующее влияние полифенольных соединений, выделенных из цветков сафлора красильного (*Carthamus tinctorius* L.) и календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) на клеточный иммунный ответ в реакции ГЗТ в условиях иммunoсупрессии, вызванной циклофосфаном. Иммуномодулирующее действие в отношении как гуморального, так и клеточно-опосредованного иммунного ответа установлено у флавоноидов из листьев *Jatropha curcas* L. (апигенин 7-*O*- $\beta$ -D-неогесперидозид, апигенин 7-*O*- $\beta$ -D-галактозид, ориентин, витексин, виценин и апигенин) (Abd-Alla et al., 2009).

В исследовании M.A. Sunil et.al (2019) показано восстановление гуморального и клеточного звеньев иммунитета за счет увеличения числа АОК и индекса реакции ГЗТ, а также стимуляция фагоцитоза макрофагов под влиянием катехина из бутанольной фракции *Acacia catechu* L. как *in vivo*, так и *in vitro*.

Результаты проведенного нами исследования согласуются с данными в работе Е.Р. Будаевой и др. (2015), в которой установлен выраженный иммунокорригирующий эффект полифенольной и полисахаридной фракций экстракта сухого из надземной части *Gentiana algida* Pall в отношении клеточного, гуморального звеньев иммунитета и фагоцитоза макрофагов при азатиоприновой иммуносупрессии. Кроме того, показано иммуномодулирующее действие ориентина, гентиопикрозида и олеаноловой кислоты, выделенных из *Gentiana algida*, при экспериментальном иммунодефиците (Хобракова В.Б., Будаева Е.Р., 2018).

О.С. Борсук и др. (2011) по изучению полифенольных и полисахаридных соединений, выделенных из спиртовых экстрактов сафлора красильного (*Carthamus tinctorius* L.), крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.), календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) показано, что курсовое введение всех исследуемых веществ приводит к стимуляции фагоцитарной активности перitoneальных макрофагов и нейтрофилов периферической крови мышей в отношении поглощения частиц латекса при циклофосфановой иммуносупрессии.

Большинство исследований показали, что растительные полисахариды активируют макрофаги путем распознавания и связывания со специфическими рецепторами на поверхности макрофагов, что инициирует иммунный ответ и оказывает иммуномодулирующее действие. Макрофаги связываются с полисахаридами и/или гликопротеинами растительного происхождения с помощью Toll-подобных рецепторов 4 (TLR4), 2 (TLR2), CD14, рецептора комплемента 3 (CR3), рецептора поглотителя (SR), рецептора маннозы (MR) и дектина-1. Активация рецепторов макрофагов

инициирует серию внутриклеточных сигнальных каскадов, приводящих к активации транскрипционного ядерного фактора (NF- $\kappa$ B), вызывающего индукцию экспрессии генов, ответственных за синтез провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-6 и т.д.) (Kouakou et.al., 2013; Luo et.al., 2018; Shin et.al., 2018; Yin et.al., 2019; Cao, 2022). Полисахариды способствуют активации гемопоэза и пролиферации лимфоидных клеток в первичных и вторичных органах иммуногенеза, увеличению экспрессии маркёров CD19, NK, NKT, CD25, МНС II, TCR, TLR2 и TLR4, цитотоксической активности спленоцитов и продукции иммунорегуляторных и провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-6), что свидетельствует об активации эффекторных механизмов врождённого иммунитета и развитии адаптивного иммунного ответа по Th-1 типу (Лебединская, 2014).

Наши результаты по оценке влияния арабино-3,6-галактана на состояние иммунной системы согласуются с данными в работе J. Yu (2018), в которой показано, что полисахаридный экстракт *Schisandra chinensis* предотвращает вызванное циклофосфаном нарушение клеточного, гуморального и неспецифического иммунитета у мышей, а также в исследовании Y. Tang et.al (2022), где отмечено повышение активности перitoneальных макрофагов под влиянием фукоидана *Laminaria japonica* у мышей, подвергнутых действию циклофосфамида. Стимулирующее влияние на фагоцитоз макрофагов отмечено также у полисахаридов из *Dendrobium sonia* (Liu, 2019), *Celosia cristata* (Sun, 2015), *Erythronium sibiricum* (Kasimu, 2017), *Fresh Garlic and Black Garlic* (Li, 2017) и *Menispermum dauricum* (Yang, 2022). При исследовании влияния арабиногалактана лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) на процессы антителообразования установлено, что арабиногалактан восстанавливает показатели гуморального иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии (Медведева, 2004). Полисахариды  $\beta$ -(1,4)-d-глюкан,  $\alpha$ -(1,4)-d-глюкан и арабиногалактан восстанавливали гуморальное и клеточное звенья иммунитета в эксперименте на мышах при циклофосфамид-индуцированной

иммуносупрессии (Jie, 2020).

При исследовании свойств полисахаридной фракции из листьев молохии в работе H.B. Lee et.al (2021) установлена иммуностимулирующая активность за счет усиления пролиферации клеток костного мозга и выработки иммуноглобулина А и цитокинов. В работе C.X. Li et.al (2022) при изучении влияния полисахарида астрагала на структуру центральных и периферических иммунных органов доказано, что изучаемое средство стимулирует активность макрофагов, естественных клеток-киллеров, дендритных клеток, Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и микроглии и индуцирует экспрессию различных цитокинов и хемокинов.

А.А. Фоминой (2014) представлены данные об иммуномодулирующих свойствах полисахаридов травы рдеста пронзеннолистного (*Potamogeton perfoliatus L.*) за счет стимуляции фагоцитоза, активности миелопероксидазы в макрофагах, цитокининдуцирующей активности моноцитов в условиях циклофосфановой иммуносупрессии.

В работе J.H. Yoo et.al (2020) по изучению иммуностимулирующего эффекта полисахарида *Phellinus baumii* у мышей с циклофосфамид-индуцированным иммунным статусом показано, что под влиянием данного вещества происходило повышение пролиферации Т- и В-лимфоцитов, активности селезеночных и перитонеальных NK-клеток, клеток костного мозга, уровня цитокинов.

В своем исследовании Z. Chen et.al. (2020) доказали иммуномодулирующую активность полисахарида из *Polygonatum sibiricum* *in vivo* и *in vitro* путем мониторинга изменений в иммунных органах. Под действием полисахарида в условиях иммуносупрессии, вызванной циклофосфамидом, происходило увеличение массы тимуса и селезенки, увеличение фагоцитарной активности макрофагов. Усиление антигенпрезентирующей функции макрофагов доказано в работе C. Wang et.al. (2017) при исследовании иммуномодулирующих свойств полисахарида, выделенного из *Epimedium koreanum Nakai*.

Известно, что оксидативный стресс является важным патогенетическим фактором развития многих заболеваний человека (Чехани, 2012). В результате активации свободнорадикальных процессов происходит окислительная модификация различных биомолекул (липидов, белков, нуклеиновых кислот), что в конечном итоге приводит к повреждению и гибели клеток тканей и органов. Природные антиоксиданты, как правило, регулируют степень влияния неферментативного свободнорадикального окисления на большинство биохимических процессов организма, создавая тем самым оптимальные условия для метаболизма и обеспечения нормального роста клеток и тканей. Это обуславливает повышенный интерес к поиску профилактических и лечебных антиоксидантных средств природного происхождения, основным преимуществом которых является их многостороннее и щадящее воздействие на организм, отсутствие или незначительность проявления побочных эффектов (Лапин, 2007). В связи с этим представляет интерес исследование влияния экстракта сухого *S. marginata* на состояние эндогенной антиоксидантной системы и процессы перекисного окисления липидов в условиях иммунодефицита, индуцированного циклофосфамидом, путем определения в гомогенате селезенки животных концентрации продукта перекисного окисления липидов - малонового диальдегида (МДА), а также активности каталазы, СОД и содержания ВГ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт *S. marginata* оказывает антиоксидантное действие, выражющееся в сохранении каталитической активности ферментов и повышении содержания пептидов эндогенной антиоксидантной системы организма. Отмечено, что под влиянием экстракта происходит снижение образования продуктов перекисного окисления липидов (МДА) на фоне экспериментальной иммуносупрессии циклофосфамидом. В модельных системах экстракт *S. marginata* проявляет выраженное мембраностабилизирующее действие, стабилизируя структурно-функциональную целостность плазматической

мембранные эритроцитов в условиях гемолиза, а также радикал-связывающую активность в отношении реакционно-активных молекул (DPPH, ABTS,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{O}_2^{\cdot-}$ ). Выявленное антиоксидантное действие испытуемого экстракта определяется наличием в его составе биологически активных веществ, в частности, флавоноида (лютеолин-7-*O*-глюкуронид), эcdистероида (20-гидроксиэcdизон) и полисахарида (арабино-3,6-галактан), способных стабилизировать и инактивировать реакционно-активные молекулы, ингибировать процессы ПОЛ, стабилизируя тем самым мембранные клеточных структур (Ендонова, 2018; Bathori, 2004; Kayani, 2016; Panche et al., 2016; Yahfoufi et al., 2018; Das et al., 2020; Arif, 2022).

Схожие данные получены в работе G. Ramadan et al. (2012), в которой доказано антиоксидантное действие сухого и водного экстрактов листьев сладкого майорана (*Origanum majorana* L.) у крыс с иммуносупрессией, вызванной циклофосфамидом. Под влиянием данных средств происходило восстановление активности каталазы и содержания глутатиона до уровня показателей у интактных животных. В работе Ю.А. Батуевой (2015) установлены антиоксидантная и антирадикальная активности растительного средства «Литофит» в тест-системах *in vitro*, содержащего флавоноиды (авикулярин, рутин, гиперозид, гликозиды кемпферола, рамнетина, лютеолина), полисахариды, аскорбиновую кислоту, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества («Литофит» снижал интенсификацию свободнорадикальных реакций и предотвращал развитие перекисного окисления липидов). В работе А.А. Тороповой и др. (2013) установлено, что настойка *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. обладает выраженной мемраностабилизирующей активностью, проявляет высокую способность к хелатированию ионов  $\text{Fe}^{2+}$ , а также оказывает антирадикальное действие в отношении DPPH-радикала.

И.А. Лупановой (2022) доказано антигипоксическое действие серпухи венценосной в условиях модели гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме, за счет входящего в его состав 20-гидроксиэcdизона.

В работе Я.Л. Страх (2021) установлена антиоксидантная активность экстрактов замороженных листовых пластинок *Rubus chamaemorus* L. *in vitro* с применением методов Fe<sup>2+</sup>-хелатирующей активности, NO-ингибирующей активности, ингибирования гидроксильных радикалов (ОН), супероксидрадикала в щелочном растворе диметилсульфоксида (ДМСО), DPPH и ABTS. Также наши данные согласуются с данными в работах А.А. Тороповой и др. (2012), Е.Г. Линхоевой и др. (2013), Е.Р. Будаевой и др. (2015), А.В. Халзановой и др. (2021), В.Б. Хобраковой и др. (2019, 2022), которые установили выраженную антиоксидантную активность растительных лекарственных средств (экстракта сухого из корней *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge, противодиабетического растительного средства «Глюковит», экстрактов сухих из надземной части *Gentiana algida*, *Silene jeniseensis* и *Rhaponticum uniflorum*), настойки *C. dahurica* в тех же модельных системах.

За счет входящих в состав экстракта листьев *Saponaria officinalis* L. природных антиоксидантов – фенольных соединений, флавоноидов Г.Б. Ендоновой (2018) доказана их антиоксидантная активность. Подобный результат получен в работе К.О. Adetoro et.al. (2013), в которой доказан антиоксидантный эффект экстракта *Vitex doniana* на крысах в условиях иммуносупрессии, вызванной четыреххлористым углеродом. Введение экстракта *Vitex doniana* значительно повышало содержание СОД и каталазы. Наши данные согласуются с результатами исследования W.K. Kayani et.al. (2016), в котором установлена радикал-связывающая активность фенолов из *Ajuga bracteosa* в отношении реакционно-активных молекул DPPH и Fe, что доказывает их антиоксидантную активность. Аналогичный результат получен в эксперименте Р.Е. Joshua et.al. (2022) на крысах линии Вистар, доказано иммуномодулирующее и антиоксидантное действие экстракта семян *Datura stramonium* L. (*Solanaceae*) в условиях циклофосфамид-индукции иммунодефицита. Благодаря высокому содержанию акутумина, хинина, катехина, хлорогеновой кислоты, галловой кислоты,

кверцетина, ванилиновой кислоты, лютеолина, формозанина С, сапонина, цианидина, З-карена, лимонена и  $\alpha$ -терpineола экстракт увеличивал активность каталазы, СОД, глутатионпероксидазы. Схожие данные по активации указанных ферментов получены при оценке антиоксидантных свойств полифенольных соединений (Yahfoufi et al., 2018).

В наших исследованиях проведено сравнение иммуномодулирующих свойств экстракта сухого *S.marginata* с препаратом сравнения – «Эхинацея» (ЗАО «ВИФИТЕХ», Россия). В ходе экспериментов можно заключить, что действие экстракта сухого *S.marginata* по выявленному иммуномодулирующему эффекту сопоставимо с таковым референтного препарата. Исследуемый экстракт, как и препарат сравнения «Эхинацея», не оказывает иммунотоксического влияния на показатели реакций всех основных звеньев иммунитета у интактных мышей, что особо важно для группы иммуномодуляторов, проявляющих свою эффективность в условиях нарушенной функции иммунной системы.

Таким образом, установленные иммунокорригирующие свойства у экстракта сухого *S. marginata* в условиях иммунодефицита, индуцированного циклофосфамидом, аргументируют важность и целесообразность продолжения исследования данного средства с целью создания новых эффективных и безопасных фитопрепаратов в качестве иммуномодуляторов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют о выраженной иммуномодулирующей активности экстракта сухого из надземной части *S.marginata* и ее индивидуальных соединений при вторичном иммунодефиците, индуцированном циклофосфамидом. Введение мышам *per os* экстракта *S.marginata* в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг на фоне иммунодепрессии приводило к значимому увеличению показателей клеточно-опосредованных иммунных реакций ГЗТ и РТПХ, антителообразования и функциональной активности макрофагов до уровня, наблюдаемого у интактных мышей. Введение опытным животным экстракта *S.marginata* на фоне циклофосфамида восстанавливает морфофункциональное состояние иммунных органов, что проявляется в ограничении инволютивных процессов в тимусе и селезенке, увеличении объемной доли лимфоидной ткани за счет активации пролиферативной активности лимфоцитов. Использование индивидуальных веществ (лютеолина-7-О-глюкуронида, арабино-3,6-галактана и 20-гидроксиэкдизона), выделенных из надземной части *S.marginata*, приводило к восстановлению нарушенных циклофосфамидом параметров иммунитета. При этом наиболее выраженным иммуномодулирующим эффектом из индивидуальных соединений обладают лютеолин-7-О-глюкуронид и арабино-3,6-галактан. Иммунокорригирующая активность испытуемого экстракта сопоставима с действием референтного препарата – «Эхинацея»; кроме того, оба средства не оказывают как стимулирующего, так и ингибирующего действия на показатели иммунитета у интактных животных.

Иммуномодулирующая активность экстракта сухого *S.marginata* обусловлена его выраженными антиоксидантными свойствами при циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессии, антирадикальной активностью, а также способностью стабилизировать мембранны иммунокомпетентных клеток.

Наличие выраженной иммуномодулирующей активности у экстракта сухого *S.marginata* позволяет рекомендовать его для дальнейшего изучения с целью создания лекарственных средств для профилактики и лечения иммунодефицитных состояний.

## ВЫВОДЫ

1. Экстракт *S.marginata* при введении интактным животным не оказывает как стимулирующего, так и ингибирующего действия на показатели реакций клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунитета, а также пролиферацию Кон-А- и ЛПС-активированных лимфоцитов, что позволяет отнести его к группе иммуномодуляторов, проявляющих свое действие при нарушениях функций иммунной системы организма.

2. Экстракт *S.marginata* обладает выраженной иммуномодулирующей активностью при циклофосфамид-индуцированном иммунодефиците, восстанавливая массу и количество ядроодержащих клеток тимуса и селезенки, показатели иммунного ответа в реакциях антителообразования, клеточно-опосредованного иммунитета (гиперчувствительности замедленного типа и трансплантат против хозяина), фагоцитоза перитонеальных макрофагов; стимулируя антигенпрезентирующую функцию макрофагов; нормализуя морффункциональное состояние тимуса и селезенки с восстановлением их структурных компонентов и активацией пролиферативной активности клеток лимфоидного ряда.

3. Одним из механизмов иммуномодулирующего действия экстракта сухого *S.marginata* является его способность снижать интенсивность свободнорадикальных процессов в гомогенате селезенки, вызванных циклофосфамид-индуцированной иммуносупрессией, стабилизируя тем самым мембранны клеточных структур; повышать активность ферментов антиоксидантной защиты организма, а также проявлять радикал-связывающую активность в отношении реакционно-активных молекул.

4. Из индивидуальных веществ, выделенных из *S.marginata*, наибольшее стимулирующее влияние на клеточный и гуморальный иммунитет оказывают лютеолин-7-*O*-глюкуронид и арабино-3,6-галактан, а на фагоцитоз макрофагов - 20-гидроксиэкдизон.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абышева Л.Н. Дикорастущие полезные растения России / Л.Н. Абышева, Л.М. Беленовская, Н.С. Бобылева. // СПб, 2001. – 123с.
2. Ангаскиева А.С. Исследование химического состава серпухи венценосной, культивируемой в Сибири / А.С. Ангаскиева, В.Ю. Андреева, Г.И. Калинкина, Е.Н. Сальникова, Е.А. Бородышина, Т.Г. Харина // Химия растительного сырья. - 2003. - № 4. - С. 47-50.
3. Арирова Т.У. Изучение иммунного статуса у лиц с вторичным иммунодефицитом на фоне иммунотропной терапии лекарственным препаратом Ноталорон / Т.У. Арирова, С.Ю. Гиндин, А.А. Исмаилова, З.Д. Каримов, М.С. Касимова, Т.А. Петрова, А.А. Рахимджанов, Р.Ж. Розумбетов, У.С. Акбаров, Л.В. Шер, А.Б. Ильчибаева, С.А. Убайдуллаев, Д.Г. Адылов // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2021. - № 3. – С. 24-30.
4. Аргынбекова А. С. Изменение количества лимфоидных клеток в центральных и периферических органах иммунной системы под воздействием общего сублетального гамма-излучения и фитопрепарата РВ / А. С. Аргынбекова // Вестник Южно-Казахстанской медицинской академии. – 2007. – № 4 (37). – С.189-191.
5. Атажанова Н.М. Коррекция вторичного иммунодефицита при остром токсическом гепатите с помощью растительных средств в эксперименте / Н.М. Атажанова // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Т. 2, № 2. – С. 43-45.
6. Атрощенко А.М. Анализ показателей импортозамещения лекарственных препаратов и тенденции развития фармацевтической отрасли в РФ / А.М. Атрощенко, М.Г. Соколова, А.Ю. Акуленков, В.В. Шеломытова // Экономика и эффективность организации производства. – 2022. - № 36. – С.35-38.

7. Бакуридзе А.Д. Иммуномодуляторы растительного происхождения / А.Д Бакуридзе, М.Ш. Курцикдзе, В.М. Писарев //Химико-фармацевтический журнал. -1993. - № 8. - С. 43-47.
8. Балдуева И.А. «Биобран» в коррекции элементов врожденного иммунитета у больных диссеминированными злокачественными новообразованиями в сочетании с противоопухолевой клеточной иммунотерапией / И.А. Балдуева, Н.П. Пипиа, А.Б. Данилова, А.В. Новик, Т.Л. Нехаева, Н.В. Емельянова, О.А. Галлиулина, Н.А. Авдонкина // Медицинская иммунология. - 2017. - Т. 19. С. 263
9. Батоева Ц.А. Коррекция морфологических изменений в органах иммуногенеза растительным препаратом при экспериментальном иммунодефиците / Ц.А. Батоева, Б.Б. Санданова, Ц.Б. Баясхаланова // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: Материалы V Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием. Иваново. - 2019. – С. 23-25.
10. Батуева Ю.А. Мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие комплексного растительного средства «литофит» в тест-системах *in vitro* / Ю.А. Батуева, А.А. Торопова, А.Г. Мондодоев, Л.Н. Шантанова // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2015. - № 5. – С. 122-124.
11. Бойко Н.Н. Фитопрепараты, анализ фармацевтического рынка Российской Федерации / Н.Н. Бойко, А.В. Бондарев, Е.Т. Жилякова и др. // Научный результат. Медицина и фармация. – 2017 - Т. 3, № 4.
12. Болибок В.А. Применение фитопрепаратов для коррекции вторичных иммунодефицитов / В.А. Болибок, С.Ю. Чудаков // Дни иммунологии в Спб. – 1999. - С. 116.
13. Борсук О.С. Доклинические исследования препаратов природного происхождения в условиях цитостатического воздействия / О.С. Борсук, Н.В. Масная, А.А. Чурин, Е.Ю. Шерстобаев // Биомедицина. – 2010. - №2. - С. 53-64.

14. Борсук О.С. Сравнительная характеристика влияния полифенольных и полисахаридных соединений, выделенных из растений Сибири и Дальнего Востока, на систему иммунитета / О.С. Борсук, Н.В. Масная, Е.Ю. Шерстобоев, Н.В. Исаикина, Г.И. Калинкина // Российский аллергологический журнал. - 2011. - № 4. - Вып.1. - С. 60-61.
15. Борщук Е.Л. Анализ иммуномодуляторов на фармацевтическом рынке / Е.Л. Борщук, Ю.Н. Попов, А.Н. Саньков // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. - № 3 (59). - С. 218-221.
16. Будаева Е.Р. Влияние сухого экстракта *Gentiana algida* Pall. На фагоцитарную активность макрофагов при экспериментальной иммуносупрессии / Е.Р. Будаева, В.Б. Хобракова // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2015. - № 12. – С. 96-99.
17. Будаева, Е.Р. Антиоксидантная активность сухого экстракта *Gentiana algida* Pall / Е.Р. Будаева, В.Б. Хобракова // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – № 8 – С. 58–60.
18. Вельмаякина Е.И. Исследование по созданию иммуномодулирующего лекарственного средства – сиропа с настойкой эхинацеи пурпурной / Е.И. Вельмаякина, В.А. Куркин, Л.Д. Климова, О.В. Бер. // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2009. - Т.11, №1 (6). – С. 1265-1268.
19. Вельмаякина, Е.И. Анализ ассортимента иммунотропных лекарственных препаратов / Е. И. Вельмаякина // Вестник ПГФА. – 2012. – № 9. – С.19-21.
20. Веселова Д.В. Использование в современной медицине цветков липы сердцевидной / Веселова Д.В., Степанова Э.Ф. // Фармация и фармакология. – 2016. -Т.4, №1(14). – С. 4-9.
21. Витязева С.А. Клеточный состав тимуса и красного костного мозга белых мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* ev в сочетании с арабиногалактаном / С.А. Витязева, Т.П. Старовойтова, В.И. Дубровина, Л.А.

- Грищенко, Г.Б. Мухтургин // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. - №3 (79). – часть 1. – С. 187-190.
22. Воробьева А.Н. Дальневосточные виды родов *Stemmacantha* Cass. и *Serratula* L. перспективные источники фитоэкдистероидов (обзор литературы) / А.Н. Воробьева, Е.В. Зарембо, В.Г. Рыбин // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2006. - Выпуск 2. - С. 90-93.
23. Гармаев Д.Э. Влияние настойки цимицифуги даурской на фагоцитарную активность макрофагов при экспериментальной иммуносупрессии / Д.Э. Гармаев, В.Б. Хобракова, Я.Г. Разуваева // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19. Специальный выпуск. – С. 267.
24. Гарник Т.П. Эхинацея пурпурная как лекарственное растение и перспективы применения новых лекарственных препаратов из этого растения / Т.П. Гарник, В.М. Фролов, Н.А. Пересадин // Проблеми еколопочної та медичної генетики і клінічної імунології: - 2007. - Вип. 1-2. - №76-77. - С. 19-39.
25. Гляделова Н.П. Растительный иммуномодулятор Биоарон С: опыт применения для профилактики и лечения инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей у детей / Н.П. Гляделова, Н.К. Унич, И.Б. Орлюк // Новости медицины и фармации. – 2013. – № 1 (454). – С. 35-39.
26. Гольдина И.А. Корrigирующие эффекты оригинального комплекса биофлавоноидов при циклофосфан-индуцированных нарушениях иммунитета / И.А. Гольдина, Е.В. Маркова Е.В., И.А Орловская // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 6. – С. 1111-1120.
27. Данилец М. Г. Влияние полисахаридов из растительного сырья на Th1-зависимый иммунный ответ (скрининговые исследования) / М. Г. Данилец, Ю. П. Бельский, А. М. Гурьев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 6. – С. 19-22.
28. Доценко Э.А. Иммунодефициты и некоторые иммуномодулирующие средства / Э.А. Доценко., Д.А. Рождественский., Г.И. Юпатов // Вестник

Витебского государственного медицинского университета. – 2014. – Т. 13, № 3. - С. 103-120.

29. Дронов И. А. Применение лекарственных средств на основе эхинацеи для профилактики и лечения острых респираторных инфекций у детей / И. А. Дронов, С. И. Эрдес // Вопросы практической педиатрии. – 2011 – № 1 – С. 51–55.
30. Дутова С.В. Влияние БАС колюрии гравилатовидной *Coluria geoides* (Rosaceae) на гуморальный иммунный ответ / С.В. Дутова, Д.С. Дильтяров, Д.Р. Ауходеев, Ю.В. Ростовцева, М.Р. Карпова // Фармация и фармакология. – 2014. - № 6 (7). – С. 74-76.
31. Дутова С.В. Влияние БАС колюрии гравилатовидной *Coluria geoides* (Rosaceae) клеточный иммунный ответ / С.В. Дутова, Ю.В. Ростовцева, М.Р. Карпова, М.А. Мяделец // Фармация и фармакология. – 2014. - № 6 (7). – С. 77-79.
32. Дутова С.В. Влияние фармацевтической субстанции из сырья *Coluria geoides* (Rosaceae) на пролиферацию иммунных клеток / С.В. Дутова, М.Р. Карпова // «Дни иммунологии в СПб 2017» Immunology Days in St. Petersburg. - 2017. – С. 268.
33. Дутова С.В. Влияние фитопрепаратов из сырья колюрии гравилатовидной на цитокинпродуцирующую способность лейкоцитов периферической крови / С.В. Дутова, Ю.В. Саранчина, М.Р. Карпова // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т.2, №1-2. – С. 563
34. Дутова С.В. Иммуностимулирующие свойства некоторых растений Сибири / С.В. Дутова, М.А. Мяделец, М.Р. Карпова // Фармация. – 2015. - №2. – С. 51-53.
35. Дутова С.В. Перспективы исследования иммунотропных фитопрепаратов / С.В. Дутова, М.Р. Карпова // Вестник Хакасского государственного университета им. Н. Ф. Катанова. – 2016. – С. 117-120.
36. Евстропов А. Н. Противоэнтеровирусная и иммуностимулирующая активность полифенольного комплекса, экстрагированного из пятилистника

- кустарникового (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz) / А. Н. Евстропов, Л. Г. Бурова, И. А. Орловская и др. // Вопросы вирусологии. – 2004. – Т. 49, № 6. – С.30-33.
37. Ендонова Г.Б. Химический состав и антиоксидантная активность экстрактов мыльнянки лекарственной (*Saponaria officinalis* L.) / Г.Б. Ендонова, Т.П. Анцупова, С.Д. Жамсарапова // Химия растительного сырья. – 2018. – № 1. – С. 137-143.
38. Ермоленко Т.И. Перспективы применения фитопрепаратов в лечении мочекаменной болезни // Актуальные проблемы медицины. - 2014.
39. Железнova А.Д. Морфологические проявления защитного влияния миллиацина в органах иммуногенеза при действии метотрексата / А.Д. Железнova, Л.М. Железнov, А.А. Штиль // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144, № 10. – С. 458-463.
40. Имельбаева Э.А. Иммунологические, цитохимические и биохимические методы исследования фагоцитирующих клеток / Э.А. Имельбаева // Методические рекомендации. - 1996. - С. 18-19
41. Исайкина Н. В. Исследование иммунотропной активности растительного экстракта «Эхиносол» / Н. В. Исайкина, Т. В. Перевозчикова, Г. И. Калинкина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2008. - Т. 146, № 8. - С. 188-189.
42. Исмаилов И.З. Разработка и применение иммуномодуляторов на современном этапе: проблемы и перспективы / И.З. Исмаилов, А.З. Зурдинов, Т.С. Сабирова // Научный журнал. – 2017. – № 1(14). – С. 83-87.
43. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований) / В.С. Камышников // М.: МЕДпресс-информ. - 2017. - С. 720
44. Караулов А.В. Иммуномодуляторы: от прошлого к будущему / А.В. Караулов // Эффективная фармакотерапия. – 2013. - №27. – С. 4-5.
45. Кащенко С.А. Изменения морфометрических показателей белой пульпы селезёнки крыс под воздействием иммунотропных препаратов / С.А.

Кащенко, М.В. Золотаревская // Укр. мед. альм. — 2011. — Том 14, № 5. - С. 74—77.

46. Ковалев И.Е. Влияние эномеланина на гемолиз эритроцитов, вызываемый свободнорадикальными реакциями и другим факторами / И.Е. Ковалев, Н.П. Данилова, С.А. Андронати // Фармакология и токсикология. – 1986. – № 4. – С. 89-91
47. Коваленко Л.П. Иммунокорrigирующие свойства фитопрепарата Тонзилгон Н / Л.П. Коваленко, Е.В. Шипаев, И.И. Кольченко // Русский медицинский журнал. – 2008. – Т. 16, №25. - С. 1684-1687
48. Конакова А.В. Перспективы использования фитопрепаратов / А.В. Конакова, К.А. Кушакова // Аллея науки. – 2019. – Т. 1, №9 (36). – С. 194-196.
49. Конакова И.А. Оценка безопасности комплексного средства «KN-73» на этапе доклинических исследований / И.А. Конакова, Ф.А. Медетханов, О.Н. Новоселов // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 229-233.
50. Конспект флоры Иркутской области (сосудистые растения) / ред. Л.И. Малышева. – Иркутск, 2008. - С. 240-241.
51. Коржевский Д.Э. Основы гистологической техники / Д.Э. Коржевский, А.В. Гиляров – СПб., СпецЛит., 2010.– 95 с.
52. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова и др. // Лабораторное дело. – 1988. - № 1. - С. 16-19.
53. Кропотов А.В. Влияние женшеня на гамма-интерфероногенез и функциональную активность перитонеальных макрофагов у мышей в условиях экспериментальной иммуносупрессии / А.В. Кропотов, Н.В. Степаненко, Р.К. Гончарова и др. // Тихookeанский медицинский журнал. - 2015. - № 2. - С. 76-79.
54. Кумышева, Л.А. Растительные мукузопротекторы в коррекции иммунодепрессивного действия антибиотиков / Л.А. Кумышева, С.А.

- Коростелев, С.Д. Марченко, Р.У. Хабриев // Фармация. – 2009. – №4. – С.42–45.
55. Куркин В.А. Актуальные аспекты создания импортозамещающих лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. - Т.14, № 5(3). - С. 734-737.
56. Куркин, В.А. Фенольные соединения как источник импортозамещающих лекарственных растительных препаратов / В.А. Куркин // Фенольные соединения. – 2012. – С.561-567.
57. Лазарева Д.Н. Иммуномодуляторы. / Д.Н. Лазарева, Л.И. Самигуллина, Т.В. Моругова – Уфа: Здравоохранение Башкортостана. - 2012. – 258 с.
58. Лазарева Д.Н. Растения, стимулирующие иммунитет / Д.Н. Лазарева, В.В. Плечев, Т.В. Моругова, Л.И. Самигуллина. – Уфа, 2005. – 96 с.
59. Лазарева Н.Б. Фитопрепараты: современные возможности использования в терапии респираторных инфекций / Н.Б. Лазарева, К.И. Карноух // Рациональная фармакотерапия. – 2020. - №17. - С.114-122.
60. Лапин А.А. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения / А.А. Лапин, М.Ф. Борисенков, А.П. Карманов, И.В. Бердник, Л.С. Кочев, Р.З. Мусин, И.М. Магдеев // Химия растительного сырья. – 2007. - №2. – С. 79-83.
61. Латышева Т.В. Вторичные иммунодефициты / Т.В. Латышева, Н.Х. Сетдикова, К.С. Манько // Цитокины и воспаление. – 2005. - №3. - С. 95-99.
62. Лебединская Е.А. Влияние сульфатированного полисахарида из буры водоросли *Laminaria japonica* на морфологию лимфоидных органов и функциональную характеристику иммунокомпетентных клеток / Е.А. Лебединская, И.Д. Макаренкова, О.В. Лебединская, Н.К. Ахматова, Т.Н. Звягинцева // Биомедицинская химия. – 2014. – Т. 60, № 5. – С. 581-590.
63. Лигачева, А. А. Влияние растительных водорастворимых полисахаридов на продукцию IgE и IgG1 / А.А. Лигачева, М.Г. Данилец, Н.В. Бельская // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – Т. 23, № 3-1. – С. 102.

64. Линхоева, Е.Г. Определение антиоксидантной активности противодиабетического средства «Глюковит» / Е.Г. Линхоева, А.А. Торопова, Е.В. Петров // Вестник Бурятского Госуниверситета. – 2013. – № 12. – С. 146 – 149.
65. Лукашов Р. И. Возможности применения комплекса биологически активных соединений спиртового экстракта цветков рудбекии шершавой как модулятора гуморального звена системы иммунитета / Р. И. Лукашов // Биологически активные вещества растений - изучение и использование: материалы Международной научной конференции (29-31 мая 2013 г., г. Минск). - 2013. - С. 146-147.
66. Лупанова И.А. Фармакологический скрининг экстракта травы серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) / И.А. Лупанова, О.Л. Сайбель, Е.В. Ферубко, Е.Н. Курманова, А.И. Радимич, В.К. Колхир, П.Г. Мизина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. - №3.
67. Лусс Л.В. Вторичные иммунодефицитные состояния у детей. Взгляд клинициста к назначению иммуномодулирующей терапии / Л.В. Лусс // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2018.- № 4 (55). - С. 4-18.
68. Любошенко Т.М. Вторичные иммунодефицитные состояния у жителей крупного промышленного города Западной Сибири. Современные проблемы науки и образования. – 2014. - №4.
69. Макарова М. Н. Биодоступность и метаболизм флавоноидов / М. Н. Макарова // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2011. - Т. 74, № 6. - С. 33 - 40.
70. Маркова Т.П. Иммунотропные препараты в педиатрии // Доктор.Ру – 2008. - №1. – С. 48-51
71. Маркова, Т.П. Иммунотропные препараты и адаптогены / Т.П. Маркова // Русский Медицинский Журнал. – 2019. – Т. 27, № 8-1. – С. 60-64.
72. Маркова, К.В. Морфологическая оценка нейропротективного действия экстрактов сухих *Rhaponticum uniflorum* и *Serratula centauroides* при

гипоксии/реоксигенации / К.В. Маркова, А.А. Торопова, Я.Г. Разуваева, Д.Н. Оленников // Биомедицина. – 2022. – Т.18, № 1. – С. 56-62.

73. Масная Н.В. Коррекция растительными полифенольными соединениями цитостатического иммунодефицита / Н.В. Масная, О.С. Борсук, Е.Ю. Шерстобоев // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2011. - Т. 2, № 2. - С.44-45.

74. Масная Н.В. Влияние полифенольных соединений, выделенных из *Carthamus tinctorius* и *Calendula officinalis* L., на функциональную активность иммунокомпетентных клеток в условиях цитостатической иммunoисупрессии / Н.В. Масная, Е.Ю. Шерстобоев, Г.И. Калинкина // Бюллетень сибирской медицины. - 2013. - Т. 12, №3. - С. 41-51.

75. Матолинец Д.А. Влияние приемов возделывания на накопление эндистероидов в левзее сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iijin) / Д.А. Матолинец, М.А. Соловьёва, Н.Н. Матолинец // Пермский аграрный вестник - 2020. - №4 (32). – С. 49-59.

76. Медведева Е.Н. Получение высокочистого арабиногалактана лиственницы и исследование его иммуномодулирующих свойств / Е.Н. Медведева, В.А. Бабкин, О.А. Макаренко, С.М. Nicolaev, В.Б. Хобракова, А.М. Шулунова, Т.Е. Федорова, Л.А. Еськова // Химия растительного сырья. – 2004. - № 4. – С.17-23.

77. Мельников А.М. Импортозамещение лекарственных препаратов в России / А.М. Мельников // Актуальные научные исследования. Сборник статей V Международной научно-практической конференции. Пенза. – 2022. – С. 215-217.

78. Меркулова Л.М. Морфологические изменения селезенки в условиях экспериментального канцерогенеза / Л.М. Меркулова, Г.Ю. Стручко, О.М. Арлашкина, М.Н. Михайлова // Acta Medica Eurasica. – 2016. - №3. – С. 54-48.

79. Митрофанова, И.Ю. Методологические аспекты оптимизации выбора растительных объектов для создания новых лекарственных средств / И.Ю.

- Митрофанова, А.В. Яницкая, Д.В. Бутенко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 5. – С. 599-601.
80. Мунхжаргал Н. Поиск эндистероидсодержащих видов во флоре Монголии и русского Алтая / Н. Мунхжаргал, Л.Н. Зибарева, Д. Оюнчимэг, А.И. Пяк // Вестник Томского государственного университета. – 2007. – № 305. – С. 192 –196.
81. Николаев С.М. Лекарственные средства на основе растительных ресурсов байкальского региона / С.М. Николаев, С.А. Чукаев // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. - 2020. - № 1. - С. 3-8.
82. Николаева Г.Г. Левзея одноцветковая и серпуха васильковая – перспективные эндистероидсодержащие растения / Г.Г. Николаева, Л.Н. Шантанова, И.Г. Николаева, Л.Д. Раднаева, Л.Л. Гармаева, Л.П. Цыбиктарова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. - №3 (97). – С. 93 – 96.
83. Новикова И.А. Вторичные иммунодефициты: клинико-лабораторная диагностика (лекция) / И.А. Новикова // Проблемы здоровья и экологии. – 2009 - С. 29-34.
84. Новикова И.А. Современные аспекты клинического применения иммуномодуляторов / И.А. Новикова // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. - 2016.- № 1. - С. 59-67.
85. Оборин М.С. Проблемы и перспективы импортозамещения в фармацевтической отрасли / М.С. Оборин // Вестник НГИЭИ. – 2021. - №5 (120). – С. 101-110.
86. Оводова Р.Г. Разветвление галактуронанового кора макромолекулы комарумана, пектина сабельника болотного *Comarum palustre* L. / Р.Г. Оводова, С.В. Попов, О.А. Бушнева // Биохимия. - 2006. - Т. 71, №5. - С. 666-671
87. Определитель растений Бурятии / ред. О.А. Аненхонова. - Улан-Удэ, 2001. - С. 552-553.

88. Петунова А.Н. Иммуномодулирующие свойства растительного средства «Пентафитон» / А.Н. Петунова, В.Б. Хобракова, Л.Н. Шантанова // Сибирский медицинский журнал. – 2004. - Т. 46, № 5, С. 54-57.
89. Попов А.М. Механизмы протективной фармакологической активности флавоноидов / А.М. Попов, О.Н. Кривошапко, А.А. Артюкова // Биофармацевтический журнал. - 2012. - Т. 4, № 4. - С. 27-41.
90. Пунегова Н.В. Фармакологические свойства экдистероидсодержащей субстанции «Экдистерон-80», полученной из серпухи венценосной (*Serratula coronata L.*): Автореф. дисс. ... канд. фарм. Наук. – Ярославль, 2009. – С. 17.
91. Разуваева, Я.Г. Влияние экстракта сухого *Serratula centauroides* на поведение белых крыс в тестах с положительным подкреплением / Я.Г. Разуваева, К.В. Маркова, А.А. Торопова, Д.Н. Оленников // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 237-242.
92. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Т. 5. Семейство Asteraceae (Compositae). Часть 2. Роды *Echinops* – *Youngia* / Отв. Ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК. - 2013. – 105с.
93. Рахимова А.К. Исследования иммунной системы под действием фитопрепарата / А.К. Рахимова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. - № 20 (1). – С. 74
94. Репина Е.Н. Функциональное состояние лейкоцитов крови лабораторных животных при экспериментальной анемии и влиянии фитоэкдистероидов *Serratula coronata L.*: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Ярославль, 2007. – С. 16.
95. Романова Н.Г. Состояние популяции *Serratula marginata* (Asteraceae) в Кемеровской области / Н.Г. Романова, Л.Н. Ковригина, А.В. Филиппова, И.В. Таракова // Сохранение разнообразия растительного мира в ботанических садах: традиции, современность, перспективы : материалы Междунар. конф.,

- посвящ. 70-летию Центр. сиб. ботанического сада, 1-8 авг. 2016 г. – Новосибирск, 2016. - С. 256-257.
96. Романюк А.Н. Динамика изменений органометрических показателей надпочечных желез половозрелых крыс-самцов после завершения ингаляций толуола и введения настойки эхинацеи пурпурной им на протяжении двух месяцев / А.Н. Романюк // Укр. морфол. альманах. - 2011. - Т. 9, №2. - С. 5-7
97. Самбукова Т.В. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т.В. Самбукова, Б.В. Овчинников, В.П. Ганапольский // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, № 2. – С. 55-62.
98. Самылина И. А. Лекарственные растительные сборы / И.А. Самылина, А.А. Сорокина, Н.В. Пятигорская // Фарматека. - 2010. - № 10. - С. 80-82.
99. Свиридов И.В. Иммунокорrigирующее действие экстракта *S.centauroides* / И.В. Свиридов, В.Б. Хобракова, Л.Н. Шантанова // Сибирский медицинский журнал – 2015. - №5. - С.120-122.
100. Свиридов И.В. Адаптогенные свойства экстракта сухого *Serratula centauroides* L. / И.В. Свиридов // Автореф. Дисс....к.м.н. – Улан-Удэ, 2016. – 23 с.
101. Северин А.П. Роль фитотерапии в повышении защитных сил организма / А.П. Северин // Глобус. – 2019. – С.113-118
102. Семенов Б.Ф. Гипотеза о связи так называемых неинфекционных заболеваний с инфекционными возбудителями / Семенов Б.Ф., Зверев В.В., Клименко С.М. // Новости вакцинопрофилактики. Вакцинация. – 2004. - №4(34). - С. 3-4
103. Сергиенко В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева. // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304 с.
104. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К.К. Сидоров // Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1973. – С. 47–51

105. Симонян, А. В. Природные и синтетические производные коричной кислоты: Монография / А. В. Симонян // Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 164с.
106. Соболева Ю.Р. Проблемы импортозамещения лекарственных средств и пути их решения: публично-правовые аспекты / Ю.В. Соболева, И.Н. Дехтярь // Вестник Саратовской государственной юридической академии. – 2022. - №5 (148). – С. 107-113.
107. Страх Я.Л. Антиоксидантная и антирадикальная активность *in vitro* экстрактов из листьев *Rubus chamaemorus* L. (rosaceae) / Я.Л. Страх, О.С. Игнатовец // Химия растительного сырья. – 2021. – №. 4. – С. 319-325.
108. Тессенев В.Т. Реакция "трансплантат против хозяина" на мышах гибридах первого поколения / В.Т. Тессенев // Иммунологические методы. М., 1979. - С. 182-186.
109. Торопова, А.А. Антиоксидантная активность сухого экстракта подземных органов *Astragalus membranaceus* и его фракций / А.А. Торопова, Э.Т. Батоцыренова, Д.Н. Оленников // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 7. – С. 107–109.
110. Торопова А.А. Антиоксидантная активность настойки *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. в условиях *in vitro* / А.А. Торопова, Д.Э. Гармаев, Я.Г. Разуваева // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2013. - №12. – С. 27-30.
111. Трошина Е.А. Иммуноэндокринология - вопросы и вызовы сегодняшнего дня / Е.А.Трошина // Проблемы эндокринологии. – 2020. – Т. 66, № 4. – С. 4-8.
112. Удалов Е.А. Фармакогностический анализ сырья лекарственных растений, обладающих иммуномодулирующей активностью / Е.А. Удалов // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. – 2014. – Т.4, № 12. – С. 1407.
113. Фёдоров Ю.Н. Стратегия и принципы иммунокоррекции и иммуномодулирующей терапии / Ю.Н Фёдоров, В.И. Клюкина, М.Н.

- Романенко и др. // Вестник Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого. – 2015. - № 3-1 (86). - С. 84-87.
114. Фомина А.А. Полисахариды *Potamogeton perfoliatus* L. как перспективные иммуномодуляторы / А.А. Фомина, С.А. Коннова, Е.И. Тихомирва // Биотехнология. Взгляд в будущее. – 2014. – Т. 2. – С. 136-138.
115. Фомина А.А. Влияние полисахаридов *Potamogeton perfoliatus* L. (*Potamogetonaceae*) на активность факторов естественной клеточной резистентности *in vitro* / А. А. Фомина, С. А. Коннова, О. А. Фучеджи, Е. И. Тихомирова // Растительные ресурсы. – 2010. – Вып. 1. – С.118-125.
116. Хайтов Р. М. Иммунология. Норма и патология / Р. М. Хайтов Г. А. Игнатьева, И. Г. Сидорович // Изд-во «Медицина». – М., 2010. - 752 с.
117. Хайтов Р.М. Иммуномодуляторы: мифы и реальность / Р.М. Хайтов // Иммунология. – 2020. – Т. 41, №2. – С. 101-106.
118. Халзанова А.В. Антиоксидантная активность экстракта сухого *Silene jeniseensis* Willd при экспериментальном иммунодефиците / А.В. Халзанова, А.А. Торопова, В.Б. Хобракова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2021. – Т. 24. – С. 49-55.
119. Хасина Э.И. Эхинацея пурпурная как средство коррекции экологически обусловленных патологий // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2014. - Т.16, №5(2). – С.1030-1032.
120. Хлебцова, Е.Б. Флавоноиды лофанта анисового: психотропная и иммуномодулирующая активность / Е.Б. Хлебцова, Э. Иглина, А.А. Сорокина, Н.Н. Гражданцева // Фармация. – 2014. – №1. – С. 39–42.
121. Хобракова, В.Б. Иммуномодулирующие свойства сухого экстракта сабельника болотного / В.Б. Хобракова, С.М. Nicolaev, Р.Н. Аляутдин // Российский медицинский журнал. – 2008. – №5. – С. 31–33.
122. Хобракова, В.Б. Влияние сухого экстракта из побегов пятилистника кустарникового на активность иммунорегуляторных клеток / В.Б. Хобракова, С.М. Nicolaev, Р.Н. Аляутдин // Российский медицинский журнал. – 2008. – № 4. – С. 43–45.

123. Хобракова В.Б. Иммуномодулирующие свойства многокомпонентного фитосредства «Байкальский» / В.Б. Хобракова, И.Э. Раднаева // Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. – 2010. - № 12. - С. 33-36.
124. Хобракова В.Б. Иммуномодулирующие свойства сухого экстракта софоры желтоватой при экспериментальной иммунодепрессии / В.Б. Хобракова, А.Б. Шоболова, Д.Н. Оленников // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 99, № 8. С. 140-141.
125. Хобракова В.Б. Перспективы использования средств растительного происхождения для коррекции иммунодефицитов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2010. - №3 (73). - С. 278-280.
126. Хобракова, В.Б. Иммуномодулирующие свойства сухого экстракта ортилии однобокой / В.Б. Хобракова, С.С. Ломбоева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 11. – С. 57-60.
127. Хобракова В.Б. Иммунокорригирующее действие сухого экстракта лапчатки белой и комплексного средства «Тиреотон» / В.Б. Хобракова, Э.В. Архипова // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 106, №7. – С. 121-123.
128. Хобракова, В.Б. Разработка способа получения иммуномодулирующего средства из растительного сбора тибетской медицины / В.Б. Хобракова, Г.В. Чехирова // Российский аллергологический журнал. – 2011. – № 4. – вып.1. – С. 406–407.
129. Хобракова В.Б. Влияние сухого экстракта «Аркосител» на состояние клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа / В.Б. Хобракова, Ю.В. Макушкина // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. - 2012. - №2 (84). - С. 128-130.
130. Хобракова В.Б. Влияние фенольных и полисахаридных соединений растительного происхождения на состояние иммунной системы организма при экспериментальной иммунодепрессии / В.Б. Хобракова, Д.Н. Оленников

// Вестник Бурятского государственного университета. – 2012. – вып. С. – С.176-181.

131. Хобракова В.Б. Иммуномодулирующие свойства растительных глюканов при экспериментальной иммунодепрессии / В.Б. Хобракова, Д.Н. Оленников // Acta Biomedica Scientifica. – 2012. - № 6 (88). – С. 103-104.
132. Хобракова В.Б. Коррекция экспериментального вторичного иммунодефицита растительным средством / Э.Т. Батоцыренова, О.Д-Д. Цыренжапова // Вестник Бурятского государственного университета. - 2012. – Спецвыпуск. – С.173-176.
133. Хобракова В.Б. Экстракт пятилистника кустарникового – перспективный регулятор иммунологических реакций организма / В.Б, Хобракова, С.М. Николаев, П.Б. Цыдендамбаев // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). - 2012. - V. 114, № 7. - С. 100-103.
134. Хобракова В.Б. Иммунокорригирующее действие сухого экстракта «Панкреофит» при экспериментальном иммунодефиците / В.Б. Хобракова, С.М. Николаев // Сибирский медицинский журнал. – 2014. – Т.129, № 6. – С. 122-125.
135. Хобракова В. Б. Сухие экстракты левзеи одноцветковой и серпухи васильковой – перспективные иммуномодуляторы / В. Б. Хобракова, И. В. Свиридов, Н. К. Татаринова // Аллергология и иммунология. – 2015. – Т. 16, № 4. - С. 407.
136. Хобракова В.Б. Иммуномодулирующие свойства растительного средства «Атерофит» / В.Б. Хобракова, С.М. Николаев // Сибирский медицинский журнал. - 2015. – Т. 139, № 8. - С. 56-58.
137. Хобракова, В.Б. Сухие экстракты левзеи одноцветковой и серпухи васильковой – перспективные иммуномодуляторы / В.Б. Хобракова, И.В. Свиридов, Н.К. Татаринова // Аллергология и иммунология. – 2015. – Т. 16, № 4. – С. 407.
138. Хобракова В.Б. Влияние экстракта сухого левзеи одноцветковой на гуморальное звено иммунного ответа при экспериментальном

- иммунодефиците / В.Б. Хобракова, Н.К. Татаринова // Медицинская иммунология. - 2017. – Т 19. – С. 281.
139. Хобракова В.Б. Иммуномодулирующая активность Форситозида В при экспериментальной иммуносупрессии / В.Б. Хобракова, Д.З. Цыренова, Д.Н. Оленников // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2017. - Т. 61, № 3. - С. 52-55.
140. Хобракова В.Б. Иммуномодулирующая активность экстракта *Gentiana algida* Pall / В.Б. Хобракова, Е.Р. Будаева, Д.Н. Оленников, И.Н. Зилфикаров // Химико-фармацевтический журнал. – 2017. – Т. 51, №. 5. – С. 40-43.
141. Хобракова В.Б. Исследование иммуномодулирующей и антиоксидантной активности сухого экстракта из клубней *Phlomoides tuberosa*(L.) Moench / В.Б. Хобракова, Д.З.Цыренова, А.А. Торопова, Д.Н. Оленников // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т.80, №3. – С. 26-30.
142. Хобракова В.Б. Влияние ориентина, гентиопикрозида и олеаноловой кислоты, выделенных из *Gentiana algida* Pall, на состояние иммунной системы в эксперименте / В.Б. Хобракова, Е.Р. Будаева // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. - Т. 62, №1. – С. 54-58.
143. Хобракова В.Б. Иммуномодулирующая и антиоксидантная активность настойки *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim / В.Б. Хобракова, А.А. Торопова, Я.Г. Разуваева, Д.Э. Гармаев // Биофармацевтический журнал. – 2019. – Т.11, №2. – С. 45-51.
144. Хобракова В.Б., Иммуномодулирующая активность сухого *Silene jeniseensis* Willd при экспериментальном иммунодефиците / В.Б. Хобракова, А.В. Халзанова, Д.Н. Оленников, С.И. Павлова, Л.Р. Абидуева // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2020.– Т. 64, № 1. – С. 113-117.
145. Хобракова В.Б. Коррекция экстрактом *Gentiana algida* Pall структурных изменений в тимусе при экспериментальной азатиоприновой

- иммunoсупрессии / В.Б. Хобракова, Я.Г. Разуваева, Е.Р. Будаева // Антибиотики и химиотерапия. – 2020. – 65; 7-8. - С. 18-23.
146. Хобракова В.Б. Влияние экстракта сухого *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC на состояние иммунной и антиоксидантной систем организма при экспериментальном иммунодефиците / В.Б. Хобракова, Ю.А. Тугарина, А.А. Торопова, Д.Н. Оленников, Л.Р. Абидуева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2022. – Т. 25, № 1. – С. 43-49.
147. Хусейнов У.М. Иммунотропная активность композиции на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого (*plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) / У.М. Хусейнов, Г.М. Бобизода // Вестник Академии медицинских наук Таджикистана. - 2018 – Т. 8, № 4 (28). - С. 511-517.
148. Цыдеданбаев П. Б. Биологические эффекты флавоноидов / П. Б. Цыдеданбаев, Б. С. Хышикуев, С. М. Николаев // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 6 (52). – С. 229-233.
149. Цыренова Д.З. Влияние экстракта *Phlomoides tuberosa* (L.) Moench на структуру селезенки мышей при иммunoсупрессии / Д.З. Цыренова, С.М. Гуляев, В.Б. Хобракова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15, № 1. – С. 53-57.
150. Чехани Н.Р. Антиоксидантная активность растений, используемых в этномедицине Тувы / Н.Р. Чехани, Ю.О. Теселкин, Л.А. Павлова, С.В. Козин, О.Б. Любицкий // Медико-биологические проблемы. – 2012. – С. 66-69.
151. Чурин А.А. Влияние экстракта *Bergenia crassifolia* на показатели специфического иммунного ответа в условиях экстремальных воздействий / А.А. Чурин, Н.В. Масная, Е.Ю. Шерстобоев, Н.И. Суслов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68, № 5. – С. 51-54.
152. Чучалин А. Г. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств / А. Г. Чучалин, Ю. Б. Белоусов, В. В. Ясенцев. Вып. XII. – М., 2011. – 938 с.

153. Шараевская И.М. Применение эхинацеи для стимуляции иммунитета у кур, подвергнутых вакцинации штаммом H5 N1 / И.М. Шараевская, Н.В. Садовиков, К.С. Маловастый // Аграрный вестник Урала. - 2010. - №12. - С. 37-38.
154. Шахмурова Г.А. Экспериментальная оценка иммунотропного действия суммарных эндистероидсодержащих препаратов из *Silene brahuica* и *Ajuga turkestanica* / Шахмурова ГА., Батырбеков А.А., Ф.Р Эгамова, Хушбактова З.А., Сыров В.Н. // Иммунология. - 2013. - №1. – С. 24-26.
155. Шукшина О.Г. Влияние растительных полифенольных комплексов на функциональную активность иммунокомпетентных клеток *in vitro*. / О.Г. Шукшина, Н.В. Масная, Н.В. Исайкина, Е.Ю. Шерстобоев, Г.И. Калинкина // Иммунология. – 2014. - №3. – С. 138-142
156. Шур Ю.В. Изучение иммунотропной активности экстрактов Астрагала лисьего в аспекте "доза-эффект" / Ю.В. Шур, В.Ю. Шур, И.В. Пустохайлов // Астраханский медицинский журнал. – 2018. – Т. 13, № 4. – С. 115-123.
157. Щербина А.Ю. Иммунодефицитные состояния / А.Ю. Щербина, А.П. Продеус, А.Г. Румянцев // Трудный пациент. – 2007. - №2, Т.5. - С. 5-10.
158. Юшков В.В. Фармакология иммунокорректоров / В.В. Юшков, Т.А. Юшкова, А.С. Ларионов. - Екатеринбург, 2005. – С. 163.
159. Abd-Alla HI. Phytoconstituents of *Jatropha curcas* L. leaves and their immunomodulatory activity on humoral and cell-mediated immune response in chicks / HI. Abd-Alla, FA. Moharram, AH. Gaara, MM. El-Safty // Zeitschrift fur Naturforschung C J Biosci.. – 2009. - №64 (7-8). – P. 495-501. doi: 10.1515/znc-2009-7-805
160. Abouelella A.M.R. Phytoterapeutic effects of *Echinacea purpurea* in gamma-irradiated mice / A.M.K. Abouelella, Y.E. Shahein, S.S. Tawfik // Journal of Veterinary Science. - 2007. - Vol. 8, №4. - P. 341-351.
161. Adetoro KO. In vivo antioxidant effect of aqueous root bark, stem bark and leaves extracts of *Vitex doniana* in CCl<sub>4</sub> induced liver damage rats / KO. Adetoro, JD. Bolanle, SB. Abdullahi, OA. Ahmed // Asian Pacific Journal of Tropical

Biomedicine – 2013. - №3 (5). – P. 395-400. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60083-0. PMID: 23646304; PMCID: PMC3642450.

162. Aditya Ganeshpurkar. Protective effect of catechin on humoral and cell mediated immunity in rat model / Aditya Ganeshpurkar, Ajay K Saluja // International Immunopharmacology. – 2018. - №54. – P. 261-266. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.11.022
163. Aditya Ganeshpurkar. Protective effect of rutin on humoral and cell mediated immunity in rat model / Aditya Ganeshpurkar, Ajay K Saluja // Chemico-Biological Interactions. – 2017. - №273. – P. 154-159. DOI: 10.1016/j.cbi.2017.06.006
164. Ahmad W. Immunomodulatory effects of *Tinospora crispa* extract and its major compounds on the immune functions of RAW 264.7 macrophages / W. Ahmad, I. Jantan, E. Kumolosasi et al. // Immunopharmacol. – 2018. - № 60. – P.141-151.
165. Arif Y. Phytoecdysteroids: Distribution, Structural Diversity, Biosynthesis, Activity, and Crosstalk with Phytohormones. / Y. Arif, P. Singh, A. Bajguz, S. Hayat. // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. - №23(15):8664. – P. 1-32. doi: 10.3390/ijms23158664. PMID: 35955797; PMCID: PMC9369314.
166. Aysooda H. Immunomodulatory effects of flavonoids: possible induction of t CD4+ regulatory cells through suppression of mtor pathway signaling activity / H. Aysooda, S. Omid, N. Biregani et al. // Frontiers in Immunology. – 2019. – V. 10. – P. 12.
167. Bajguz A. Chapter 5 - Ecdysteroids in plants and their pharmacological effects in vertebrates and humans / A. Bajguz, I. Bąkała, M. Talarek // Studies in Natural Products Chemistry. – 2015. – Vol. 45. – P. 121-145.
168. Barrett B. Medicinal properties of *Echinacea*: A critical review // Phytomedicine. – 2003. - Vol. 10, No. 1. - P. 66-86.
169. Bathori M. Monitoring the antioxidant activity of extracts originated from various *Serratula* species and isolated of flavonoids from *Serratula coronata* / M.

- Bathori, I. Zupko, A. Hanyadi, E. Gacsne-Baitz, Z. Dinya, P. Forgo // Fitoterapia. – 2004. - Vol. 75, N 2. - P. 162-167.
170. Bauer R. Alkamides from the roots of *Echinacea Purpurea* / R. Bauer, P. Remiger, H. Wagner. // Phytochemistry. - 1988. - Vol. 21, No. 7. - P. 2339-2342
171. Bendjeddou D. Immunostimulating activity of the hot water-soluble polysaccharide extracts of *Anacyclus pyrethrum*, *Alpinia galanga* and *Citrullus colocynthis* / D. Bendjeddou, K. Lalaoui, D. Satta // Journal of Ethnopharmacology. - 2003. - Vol. 88, No. 2-3. - P. 155-160
172. Bernards M. A. Plant natural products: a primer1 / M. A. Bernards // Canadian Journal of Zoology. – 2010. – Vol. 88. – P.601–614.
173. Bhardwaj M.  $\alpha$ -Ecdysone suppresses inflammatory responses via the Nrf2 pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells / M. Bhardwaj, NZ. Mamadalieva, AK. Chauhan, SC. Kang // International Immunopharmacology. – 2019. - №73. – P. 405-413. doi: 10.1016/j.intimp.2019.05.038.
174. Bijelić K. Phytochemicals in the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2-Clinical Evidence / K. Bijelić, M. Hitl, N. Kladar // Antibiotics (Basel). – 2022. – Vol.11, №11. – P. 1614. doi: 10.3390/antibiotics11111614.
175. Burger R.A. Echinacea-induced cytokine production by human macrophages / R.A. Burger, A.R. Torres, R.P. Warren, V.D. Caldwell, B.G. Hughes // International Journal of Immunopharmacology. - 1997. - Vol. 19, No. 7. - P. 371-379.
176. Cao Y. Herb Polysaccharide-Based Drug Delivery System: Fabrication, Properties, and Applications for Immunotherapy / Y. Cao, Z. Chen, L. Sun, Y. Lin, Y. Yang, X. Cui, C. Wang // Pharmaceutics. – 2022. -Vol. 14, №8. – P. 1703. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081703>.
177. Chen Z. Characterization and Immunological Activities of Polysaccharides from *Polygonatum sibiricum* / Z. Chen, J. Liu, X. Kong, H. Li. // Biological and Pharmaceutical Bulletin. – 2020. - №43(6). – P. 959-967.

178. Cherry L.W. Future directions for the discovery of natural product-derived immunomodulating drugs: an IUPHAR positional review / L.W. Cherry // Pharmacological Research. – 2022. – 177:106076
179. Chevari S. The role of superoxide dismutase in the oxi-dative processes of the cell and the method for its deter-mination in biological materials / S. Chevari, I. Chaba, J. Sekej // Laboratornoe delo – Laboratory work. – 1985. – Vol. 11. - P. 678–681.
180. Colunga Biancatelli RML. Quercetin and Vitamin C: An Experimental, Synergistic Therapy for the Prevention and Treatment of SARS-CoV-2 Related Disease (COVID-19) / RML. Colunga Biancatelli, M. Berrill, JD. Catravas, PE. Marik // Frontiers in Immunology. – 2020. - №11. – P. 1451. doi: 10.3389/fimmu.2020.01451.
181. Comalada M. Inhibition of pro-Inflammatory Markers in Primary Bone Marrow-Derived Mouse Macrophages by Naturally Occurring Flavonoids: Analysis of the Structure-Activity Relationship / M. Comalada, I. Ballester, E. Bailon, S. Sierra, J. Xaus, F. de Medina, A. Zarzuelo. // Biochemical Pharmacology. – 2006. – Vol. 72. – P. 1010–1021.
182. Crouvezier S. The Effects of Phenolic Components of Tea on the Production of Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines by Human Leukocytes in Vitro / S. Crouvezier, B. Powell, D. Keir, P. Yaqoob // Cytokine. – 2001. – Vol. 13. – P. 280–286.
183. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibody forming cells // Nature. – 1965. - № 207(5001). – P. 1106-1107.
184. Das N. The phytochemical, biological and medicinal attributes of phytoecdysteroids: an updated review / N. Das, S.K. Mishara, A. Bishayee, E.S. Ali, A. Bishayee // Acta Pharmaceutica Sinica B. - 2020, doi:10.1007/978-3-642-22144-6.
185. Dhama, K. Effect of immunomodulation and immunomodulatory agents on health with some bioactive principles, modes of action and potent biomedical

- applications / K. Dhama, M. Saminathan, S.S. Jacob // International Journal of Pharmacology. – 2015. – Vol. 11, № 4. – P. 253–290.
186. Farooqi S. Beneficial effects of leptin on obesity, T-cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency / S. Farooqi, G. Matarese, G.M. Lord // Journal of Clinical Investigation. – 2002. – Vol. 110, №8. – P. 1093-1103.
187. Fatimawali. Immunomodulatory potential of bioactive compounds of betel leaf extract targeting COVID-19 immunological human host proteins: An in silico study / Fatimawali, Marko Jeremia Kalalo, Siboantua Broolin Simanjuntak, Tri Andira Hebber, Billy Johnson Kepel, Trina Ekawati Tallei // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2022. - Vol. 12(02). – P. 075-088. DOI: 10.7324/JAPS.2021.120208 ISSN 2231-3354
188. Faulkenberg T. MDS-3: Managing access to medicines and health technologies. Part I: Policy and economic issues. Chapter 5: Traditional and complementary medicine policy [Internet]. Management Sciences for Health (MSH); 2012 [cited 2016 Sep 9]. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19582en/s19582en.pdf>
189. Figueiredo MB. Cellular immune response in *Rhodnius prolixus*: role of ecdysone in hemocyte phagocytosis / MB Figueiredo, DP Castro, NF S Nogueira, ES Garcia, P Azambuja.// Journal of Insect Physiology. – 2006. – Vol. 52(7). P. 711-716. doi: 10.1016/j.jinsphys.2006.03.011. Epub 2006 Apr 5. PMID: 16759667.
190. Guo A. Promotion of regulatory T cell induction by immunomodulatory herbal medicine licorice and its two constituents / A. Guo, D. He, HB. Xu, CA. Geng, J. Zhao // Scientific Reports. – 2015. - №5:14046. doi: 10.1038/srep14046. PMID: 26370586; PMCID: PMC4570190.
191. Jantan I. Plant-derived immunomodulators: an insight on their preclinical evaluation and clinical trials / I. Jantan, W. Ahmadand, S-N-A. Bukhari // Frontiers in Plant Science. – 2015. - №6. – P. 1-18.

192. Jie D. Immunostimulating effect of polysaccharides isolated from Ma-Nuo-Xi decoction in cyclophosphamide-immunosuppressed mice / D. Jie, T. Gao, Z. Shan, J. Song, M. Zhang, O. Kurskaya, K. Sharshov, L. Wei, H. Bi // Int J Biol Macromol. – 2020. – Vol. 146. – P. 45-52. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.12.042. Epub 2019 Dec 12. PMID: 31838067.
193. Joshua PE. Modulation of immunological responses by aqueous extract of *Datura stramonium* L. seeds on cyclophosphamide-induced immunosuppression in Wistar rats. / PE. Joshua, J. Yahaya, DE. Ekpo, JO. Ogidigo, AS. Odiba, RO. Asomadu, SA. Oka, OS. Adeniyi // BMC Immunol. – 2022. - № 23(1). – P. 50. doi: 10.1186/s12865-022-00519-y. PMID: 36261807; PMCID: PMC9583546.
194. Lee HB. Characterization, prebiotic and immune-enhancing activities of rhamnogalacturonan-I-rich polysaccharide fraction from molokhia leaves / H.B. Lee, S.U. Son, J.E. Lee, S.H. Lee, C.H. Kang, Y.S. Kim, K.S. Shin, H.Y. Park // International Journal of Biological Macromolecules. – 2021. – Vol. 175. – P. 443-450.
195. Ma L. Characterization and macrophage immunomodulatory activity of two polysaccharides from the flowers of *Paeonia suffruticosa* Andr. / L. Ma, K. Jiao, L. Luo, J. Xiang, J. Fan, X. Zhang, J. Yi, W. Zhu // International Journal of Biological Macromolecules. – 2019. – Vol. 124. – P. 955-962. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.035.
196. Kasimu R. Water-soluble polysaccharide from *Erythronium sibiricum* bulb: Structural characterisation and immunomodulating activity / R. Kasimu, C. Chen, X. Xie, X. Li. // International Journal of Biological Macromolecules. – 2017. – Vol. 105(Pt 1). – P. 452-462. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.07.060
197. Kannan, M. An immune-pharmacological investigation of Indian medicinal plant *Nyctantes arbor-tristis* Linn. / M. Kannan, R. Singh // World Applied Science Journal. - 2010. - № 11 (5). - P. 495-503
198. Karen S Tuano. Secondary immunodeficiencies: An overview / S.T. Karen, S. Neha, C. Javier // An Allergy Asthma Immunol. – 2021. – Vol. 127(6). – P. 617-626

199. Kayani WK. Evaluation of *Ajuga bracteosa* for antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, antidepressant and anticoagulant activities / WK. Kayani, E. Dilshad, T. Ahmed, H. Ismail, B. Mirza // BMC Complement Altern Med. – 2016. – Vol. 16(1). – P. 375. doi: 10.1186/s12906-016-1363-y. PMID: 27677846; PMCID: PMC5039935.
200. Khan J. Dietary Flavonoids: Cardioprotective Potential with Antioxidant Effects and Their Pharmacokinetic, Toxicological and Therapeutic Concerns / J. Khan, P.K. Deb, S. Priya, K.D. Medina, R. Devi, S.G. Walode, M. Rudrapal // Molecules. – 2021. – Vol. 26(13):4021
201. Khudhair Hussein Ali, D. Effect of azathioprine drug on some hematological parameters and histological structure of spleen and intestine in albino male mice / D. Khudhair Hussein Ali // World Journal of Pharmaceutical Research. – 2016. – Vol.5, № 5. – P. 1793–1804.
202. Kouakou K. Immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Alchornea cordifolia* / K. Kouakou, IA. Schepetkin, A. Yapi, LN. Kirpotina, MA. Jutila, MT. Quinn // J Ethnopharmacol. – 2013. – Vol. 146. – P. 232–242. doi: 10.1016/j.jep.2012.12.037
203. Kumar, S. A review on immunostimulatory plants / S. Kumar, P. Gupta, S. Sharma, D. Kumar // Journal of Chinese Integrative Medicine. – 2011. – Vol. 9, № 2. – P. 117–128.
204. Kumar H. Immunomodulatory potential of *Nyctanthes abrortristis* stem bark / H. Kumar, N. Vasudeva. // J Ayurveda Integr Med. – 2022. – Vol. 13(2):100556. doi: 10.1016/j.jaim.2022.100556
205. Li CX. Astragalus polysaccharide: a review of its immunomodulatory effect / CX Li, Y Liu, YZ Zhang, JC Li, J Lai // Archives of Pharmacal Research. – 2022. - №45 (6). – P. 367-389. doi: 10.1007 / s12272-022-01393-3 .
206. Li M. Comparison of Immunomodulatory Effects of Fresh Garlic and Black Garlic Polysaccharides on RAW 264.7 Macrophages / M. Li, Y.X. Yan, Q.T. Yu // Journal of Food Science. – 2017. – Vol. 82(3). – P. 765-771. doi: 10.1111/1750-3841.13589

207. Linde K. Echinacea for preventing and treating the common cold / K. Linde, B. Barrett, K. Wolkart // Cochrane Database Syst Rev. - 2006. - №25 (1): CD000530
208. Liu W. Dendrobium sonia polysaccharide regulates immunity and restores the dysbiosis of the gut microbiota of the cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice / W. Liu, R. Yan, L. Zhang. // Chinese Journal of Natural Medicines. – 2019. - №17(8). – P. 600-607. doi: 10.1016/S1875-5364(19)30062-7.
209. Luo B. Characterization and immunological activity of polysaccharides from Ixeris polyccephala / B. Luo, LM. Dong, QL. Xu, Q. Zhang, WB. Liu, XY. Wei, et al. // International Journal of Biological Macromolecules. – 2018. – Vol. 113. – P. 804–812. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.165
210. Makhija, I. K. Sphaeranthus indicus: A review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties / I. K. Makhija, L. Richard, S. P. Kirti, K. Saleemullah // International Journal of Pharmacology - 2011. - № 7 (2). - P. 171-179
211. Miller S. C. Echinacea: a Miracle Herb against Aging and Cancer? Evidence In vivo in Mice / S. C. Miller // Complementary and Alternative Medicine. - 2005. - № 2 (3). P. 309-314
212. Morton B, Pennington SH, Gordon SB. Immunomodulatory adjuvant therapy in severe community-acquired pneumonia / B. Morton, S.H. Pennington, S.B. Gordon // Expert Review of Respiratory Medicine. – 2014. - № 8(5). – P. 587-96.
213. Mossman T.R. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays / T. Mossman // Journal of Immunological Methods. – 1983. – Vol. 65. – P. 55-63.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
214. Newman DJ. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014 / D.J. Newman, G.M. Cragg // Journal of Natural Products. – 2016. - №79(3). – P. 629-661. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b01055

215. Nikolaev S.M. Phenolic compounds of *Serratula centauroides* and anxiolytic effect / S.M. Nikolaev, I.G. Nikolaeva; Y.G. Razuvayeva,; I.E. Matkhanov; L.P. Tsybiktarova; L.N. Shantanova; G.G. Nikolaeva // Farmacia. – 2019. – Vol. 67. – P. 504–510.
216. Noh EM. Immuno-enhancement effects of *Platycodon grandiflorum* extracts in splenocytes and a cyclophosphamide-induced immunosuppressed rat model / EM. Noh, JM. Kim, HY. Lee, HK. Song, SO. Joung, HJ. Yang, MJ. Kim, KS. Kim, YR. Lee // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2019. - №19(1). – P. 322. doi: 10.1186/s12906-019-2724-0. PMID: 31752816; PMCID: PMC6868875.
217. Nudo LP. Immunostimulatory effects of *Uncaria perrottetii* (A. Rich.) Merr. (Rubiaceae) vinebark aqueous extract in Balb/C mice / LP. Nudo, ES. Catap // J Ethnopharmacol. – 2011. – Vol.133(2). – P. 613-20. doi: 10.1016/j.jep.2010.10.044.
218. Olennikov D.N. Method of the rapid analysis of 20-hydroxyecdysone content in plants and ferns using solid-phase extraction on polyamide and microcolumn HPLC-UV / D.N. Olennikov, N.I. Kashchenko // Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya. – 2018.- № 3. – P. 41-52.
219. Panche A. Flavonoids: An overview / Panche A., Diwan A., Chandra S. // Journal of Nutritional Science. – 2016. – Vol.5(47). – P. 1-15. doi:10.1017/jns.2016.41.
220. Parbat AY. Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants as immunomodulator. / A.Y. Parbat, G.P. Malode, A.R. Shaikh, W.A. Panchale, J.V. Manwar, R.L. Bakal // World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences. – 2021. - №6(2). – P. 43-55. Available from: <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2021.6.2.0048>
221. Peschel W. Effects of 20-hydroxyecdysone, *Leuzea carthamoides* extracts, dexamethasone and their combinations on the NF-κB activation in HeLa cells. / W. Peschel, A. Kump, J.M. Prieto // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2011.

- Vol. 63, №11. – P. 1483-95. doi: 10.1111/j.2042-7158.2011.01349.x. PMID: 21988429.
222. Popov S.V. Inhibition of neutrophil adhesion by pectic galacturonans / S.V. Popov, R.G. Ovodova, G.Iu. Popova // Bioorg Khim. - 2007. - №33(1). - P. 187-92
223. Qu D. Characterization and macrophages immunomodulatory activity of two water-soluble polysaccharides from Abrus cantoniensis / D. Qu, S. Lian, H. Hu, W. Sun, H. Si. // Frontiers in Nutrition. - 2022. - 9:969512. doi: 10.3389/fnut.2022.969512.
224. Ramadan G. Egyptian sweet marjoram leaves protect against genotoxicity, immunosuppression and other complications induced by cyclophosphamide in albino rats / G. Ramadan, NM. El-Beih, MM. Zahra // Br J Nutr. – 2012. – Vol.108(6). - P. 1059-68. doi: 10.1017/S0007114511006210.
225. Rashmi K. Immunomodulatory effect of leaf extracts of Barringtonia acutangula (L.) Gaertn / K. Rashmi, K. Hedge, K. Shenoy // Indian Journal of Traditional Knowledge. – 2017. – V. 16(4) – P. 689-693.
226. Rezaie A. Effect of Echinacea purpurea on hepatic and renal toxicity induced by diethylnitrosamine in rats / A. Rezaie, A. Fazlara, M.H. Karamolah // Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. - 2013. - Vol. 8, №2. - P. 60-64
227. Robinson M.M. The World Medicines Situation 2011 / M.M Robinson., X. Zhang // Traditional Medicines: Global Situation, Issues and Challenges. – 2011. – № 3. – P. 14.
228. Saybel O.L. Phenolic Compounds and Immunomodulating Activity of Chicory (*Cichorium intybus* L.) Extract / O.L. Saybel, T.D. Rendyuk, T.D. Dargaeva, S.M. Nikolaev, V.B. Khobrakova // Pharmacognosy Journal. – 2020. – Vol. 12. - Issue 5. – P. 1104-1107.
229. Sengupta S. Properties of Biologically Active Components of Spices Against SARS-CoV-2 and Pan β-Coronaviruses / S. Sengupta, D. Bhattacharyya, G. Kasle // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2021. – № 11: 729622. doi: 10.3389/fcimb.2021.729622.

230. Shakhmurova G.A. Efficiency of phytoecdysteroids on immunogenesis. / G.A. Shakhmurova // European science. - 2018. - №4 (36). – P. 75 – 77.
231. Shaik I.H. Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiol-masking reagent and the enzymatic recycling method: Application to the rat liver and bile samples / I.H. Shaik, R.Mehvar // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2006. - № 385 (1). - P.105-113.
232. Shantanova L.N. Rhaponticum uniflorum and Serratula centauroides extracts attenuate emotional injury in acute and chronic emotional stress / L.N. Shantanova, D.N. Olennikov, I.E. Matkhanov, S.M. Gulyaev, A.A. Toropova, I.G. Nikolaeva, S.M. Nikolaev // Pharmaceuticals. – 2021. – Vol. 14, No 1186. - DOI: 10.3390/ph14111186
233. Shin MS. Molecular mechanisms of immunomodulatory activity by polysaccharide isolated from the peels of Citrus unshiu / MS. Shin, SB. Park, KS. Shin // International Journal of Biological Macromolecules. – 2018. – Vol. 112. - P. 576–83. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.02.006
234. Shirani K. Phytotropy of cyclophosphamide-induced immunosuppression / K. Shirani, FV. Hassani, K. Razavi-Azarkhiavi, S. Heidari, BR Zanjani, G. Karimi // Environmental Toxicology and Pharmacology. – 2015. – Vol.39(3). – P. 1262-75. 10.1016/j.etap.2015.04.012. Epub 2015 Apr 27.
235. Simonova N.A. Possibilities of using plant immunomodulators in COVID-19 prevention / N.A. Simonova, E.V. Komleva // Physiological support of the training process and physical culture lessons. – 2021. – P. 223-224.
236. Singh M. Phytotherapeutic Drugs for COVID-19 Treatment: A Scoping Review./ M. Singh, D. Trivedi, R. Mohapatra, T. Bagchi, C.P. Durthi, C. Kuppam // Current Pharmaceutical Design. - 2021 – Vol.27, №31. – P. 3389-3398. doi: 10.2174/1381612827666210705163807.
237. Smith C. Prevalence of complementary and alternative medicine and use among children in South Australia / C. Smith, K. Eckert. // Journal of Paediatrics and Child Health. – 2006. – Vol.42(9). – P. 538-543. doi: 10.1111/j.1440-1754.2006.00918

238. Stark, A.K. PI3K inhibitors in inflammation, autoimmunity and cancer / A.K. Stark, S. Sriskantharajah, E.M. Hessel, K. Okkenhaug // Current Opinion in Pharmacology. – 2015. – №23. – P. 82–91.
239. Sultan, M.T. Immunity: plants as effective mediators / M.T. Sultan, M.S. Butt, M.M. Qayyum, H.A. Suleria // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2014. – Vol.54, №10. – P. 1298–1308.
240. Sun Z. Purification, characterization and immunomodulatory activity of a polysaccharide from Celosia cristata. / Z. Sun, Y. Peng, WW. Zhao, LL. Xiao, PM. Yang // Carbohydr Polym. – 2015. – Vol.133. – P. 337-44. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.06.093.
241. Sunil MA. Catechin rich butanol fraction extracted from Acacia catechu L. (a thirst quencher) exhibits immunostimulatory potential / M.A. Sunil, V.S. Sunitha, A. Ashitha, S. Neethu, S.J. Midhun, E.K. Radhakrishnan, M. Jyothis. // Journal of Food and Drug Analysis Follow. – 2019. – Vol. 27, №1. – P. 195-207. doi: 10.1016/j.jfda.2018.06.010.
242. Sunil M.A. Immunomodulatory activities of Acacia catechu, a traditional thirst quencher of South India. / M.A. Sunil, V.S. Sunitha, E.K. Radhakrishnan, M. Jyothis // Journal of Ayurveda and Integrative Medicine. – 2019. – Vol.10, №3. – P. 185-191. doi: 10.1016/j.jaim.2017.10.010.
243. Syed Hussein SS. (+)-Catechin Attenuates NF-κB Activation Through Regulation of Akt, MAPK, and AMPK Signaling Pathways in LPS-Induced BV-2 Microglial Cells. / S.S. Syed Hussein, M.N. Kamarudin, H.A. Kadir // The American Journal of Chinese Medicine. – 2015. – Vol. 43, № 5. P. 927-52. doi: 10.1142/S0192415X15500548.
244. Tang Y. Effects of Fucoidan Isolated From Laminaria japonica on Immune Response and Gut Microbiota in Cyclophosphamide-Treated Mice / Y. Tang, Q. Pu, Q. Zhao, Y. Zhou, X. Jiang, T. Han // Front Immunol. – 2022. -13:916618. doi: 10.3389/fimmu.2022.916618. PMID: 35664002; PMCID: PMC9160524.
245. Tilwari A. Comparative study of alcoholic and aqueous extracts of Tribulus terrestris on specific and non specific immune responses in wistar rats: an in vivo

- study / A. Tilwari, N.P. Shukla, P. Uma Devi // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2013. – Vol.5, №3. – P. 84–87.
246. Titilayo O Fakaye. Immunomodulatory effect of extracts of Hibiscus sabdariffa L. / Titilayo O Fakaye, Anirban Pal, D U Bawankule, S P S Khanuja // Phytotherapy Research. – 2008. – Vol.22(5). – P. 664-8. PMID: 18398929. DOI: 10.1002/ptr.2370
247. Tiwari R. Herbal Immunomodulators - A Remedial Panacea for Designing and Developing Effective Drugs and Medicines: Current Scenario and Future Prospects / R. Tiwari, S.K. Latheef, I. Ahmed // Current Drug Metabolism. - 2018. - № 19(3). - P. 264-301. doi: 10.2174/f1389200219666180129125436. PMID: 29380694.
248. Walaa N.A. Immunomodulatory and Natural Immunomodulators / N.A. Walaa // Journal of Allergy and Inflammation. – 2017. – №1(2). – P. 1-4.
249. Walther M. Upregulation of TGF-beta, FOXP3 and CD4+CD25+ regulatory T cells correlates with more rapid parasite growth in human malaria infection / M. Walther, J. Tongren, L. Andrews // Immunity. – 2005. – Vol. 23. – P. 287-296.
250. Wang S. Identification and determination of ecdysones and flavonoids in *Serratula strangulata* by micellar electrokinetic capillary chromatography / S. Wang // Planta Med. – 2002. – Vol. 68. is. 11. – P. 1029–1033.
251. Wang C. Polysaccharides from *Epimedium koreanum* Nakai with immunomodulatory activity and inhibitory effect on tumor growth in LLC-bearing mice / C. Wang, L. Feng, J. Su, L. Cui, Dan Liu, J. Yan, C. Ding, X. Tan, X. Jia // Journal of Ethnopharmacology. – 2017. – Vol.207. – P. 8-18. doi: 10.1016/j.jep.2017.06.014. Epub 2017 Jun 14. PMID: 28627460.
252. Yahfoufi N. The immunomodulatory and anti-inflammatory role of polyphenols / N. Yahfoufi, N. Alsadi, M. Jambi // Nutrients. – 2018. – V. 2, № 10(11). – P. 1618.
253. Yang P. Gas chromatography (GC) fingerprinting and immunomodulatory activity of polysaccharide from the rhizome of *Menispermum dauricum* DC. / P. Yang, Y. Zhai, Y. Ma, B. Mao, F. Wang, L. Li, L. Luan, Y. Liu // PeerJ. – 2022. –

Vol.10:e13946. doi: 10.7717/peerj.13946. PMID: 36032961; PMCID: PMC9406803.

254. Yin M. Advances in Research on Immunoregulation of Macrophages by Plant Polysaccharides / M. Yin, Y. Zhang, H. Li. // Front Immunol. – 2019. – Vol.10, №145. doi: 10.3389/fimmu.2019.00145. PMID: 30804942; PMCID: PMC6370632.

255. Yoo JH. *Phellinus baumii* enhances the immune response in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice / JH. Yoo, YS Lee, S Ku, HJ Lee. // Nutrition Research Reviews. – 2020. – Vol. 75. – P. 15-31. doi: 10.1016/j.nutres.2019.12.005. Epub 2019 Dec 14. PMID: 31955012.

256. Yu.J. Immunomodulatory effect of Schisandra polysaccharides in cyclophosphamide-induced immunocompromised mice / J. Yu, L. Cong, C. Wang, H. Li, C. Zhang, X. Guan. // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2018. – №15(6). – P. 4755-4762.

257. Zhang F. Inhibition of drug-metabolizing enzymes by Qingfei Paidu decoction: Implication of herb-drug interactions in COVID-19 pharmacotherapy / F. Zhang, J. Huang, W. Liu, C.R. Wang, Y.F. Liu, D.Z. Tu, X.M. Liang, L. Yang, W.D. Zhang, H.Z. Chen, G.B. Ge // Food and Chemical Toxicology. – 2021. – Vol.149:111998. doi: 10.1016/j.fct.2021.111998.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

**АОК** – антителообразующая клетка; **АОС** – антиоксидантная система;  
**АФК** – активные формы кислорода; **БАВ** – биологически активные вещества;  
**ВГ** – восстановленный глутатион; **ГЗТ** – гиперчувствительность замедленного типа; **ДМСО** – диметилсульфоксид; **ИР ГЗТ** – индекс реакции гиперчувствительности замедленного типа; **Кон-А** – конканавалин А; **ЛПС** - липополисахарид; **МДА** – малоновый диальдегид; **ПМ** – перитонеальные макрофаги; **ПОЛ** – перекисное окисление липидов; **РТПХ** – реакция транспланта против хозяина; **СОД** – супероксиддисмутаза; **ФИ** - фагоцитарный индекс.