

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

На правах рукописи



ТАТАРИНОВА
Наталья Кирилловна

АДАПТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА
ЭКСТРАКТОВ *FORNICIUM UNIFLORUM L.*

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
д.б.н., профессор Шантанова Л.Н.

Улан-Удэ -2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЙ И СРЕДСТВАХ, ОБЛАДАЮЩИХ АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ	9
1.1. Современные представления об общем адаптационном синдроме и механизмах его формирования	9
1.2. Растительные адаптогены, фитостероиды и стероидсодержащие средства	19
1.4. Сведения о левзее одноцветковой (<i>Fornicium uniflorum</i> L.)	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	31
2.1. Описание объектов исследования	31
2.2. Характеристика лабораторных животных	32
2.3. Модели и методы исследований	333
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ <i>FORNICIUM UNIFLORUM</i> L.	38
3.1. Исследование стресс-протективной активности экстрактов <i>F.uniflorum</i>	39
3.1. 1. Влияние на устойчивость к иммобилизационному стрессу	39
3.1.2. Влияние на устойчивость к эмоциональному стрессу	44
3.2. Исследование актопротекторной активности экстрактов <i>F.uniflorum</i>	50
3.3. Влияние экстрактов <i>F. uniflorum</i> на устойчивость животных к кислороддефицитным состояниям различного генеза	54
3.4. Исследование анаболической активности экстрактов <i>F. uniflorum</i>	57
3.5. Исследование мембраностабилизирующей активности экстрактов <i>F. uniflorum</i>	60
3.6. Исследование антиоксидантной активности экстрактов <i>F. uniflorum</i>	62
3.6.1. Антирадикальная активность в отношении супероксидных анион-	62

радикалов	
3.6.2. Антирадикальная активность в отношении NO– радикалов	63
3.6.3. Антирадикальная активность в отношенииДФПГ радикалов	64
3.6.4. Изучение Fe ²⁺ - хелатирующей активности	65
3.6.5. Влияние скорость процесса перекисного окисления липидов	66
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТОВ <i>FORNICIUM UNIFLORUM</i> L. НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ	68
4.1. Влияние экстрактов <i>F. uniflorum</i> на поведенческую активность крыс в тесте «открытое поле»	68
4.2. Влияние экстрактов <i>F. uniflorum</i> на поведенческую активность крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»	68
4.3. Влияние экстрактов <i>F. uniflorum</i> на поведенческую активность крыс в тесте «светлая/темная камера»	70
4.4. Влияние экстрактов <i>F. uniflorum</i> на выработку условной реакции пассивного избегания	73
4.5. Влияние экстрактов <i>F. uniflorum</i> на поведение крыс в конфликтной ситуации	75
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА <i>FORNICIUM UNIFLORUM</i> L. ПРИ ИММУНОСУПРЕССИВНОМ СОСТОЯНИИ	76
5.1. Влияние на состояние клеточного звена иммунного ответа	77
5.2. Влияние на состояние гуморального звена иммунного ответа	77
5.3. Влияние на макрофагальное звено иммунного ответа	79
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ	81
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	87
ВЫВОДЫ	89
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	90
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	91

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. В современных условиях отмечается увеличение числа т.н. «болезней цивилизации», фиксируются новые, ранее не известные нозологические формы и синдромы, связанные с депрессией генетически детерминированных адаптационно-компенсаторных механизмов человека. Участие стресс-реакции показано в патогенезе более чем 200 заболеваний и патологических состояний, которые по данным ВОЗ к 2020 г. будут второй ведущей причиной инвалидизации и смертности после сердечно-сосудистых заболеваний (Путилина, 2015; Зайцева, 2016; Asea et al., 2013). Особую актуальность данная проблема приобретает у населения крупных мегаполисов, испытывающего хронический психо-эмоциональный стресс и подвергающегося влиянию неблагоприятных экологических условий, а также у проживающих в неблагоприятных климато-географических условиях, к которым относятся большие территории России, такие как Сибирь и Крайний Север, где организм человека наиболее подвержен влиянию целого комплекса экстремальных факторов, истощающих его адаптивные резервы и способствующих развитию болезней. Для повышения неспецифической резистентности организма человека наиболее предпочтительным является использование адаптогенных средств растительного происхождения, лишенных многих недостатков химиотерапевтических средств, таких как привыкание, токсичность, развитие побочных негативных реакций при длительном применении (Яременко, 2007; Николаев, 2012; Пашинский, 2014).

В настоящее время большой интерес к использованию в качестве растительного сырья для получения адаптогенных препаратов представляют экидистероидсодержащие растения (Тимофеев, 2004; Володина и соавт., 2012; Сыров и соавт., 2014). Фитоэкидистероиды, являющиеся полигидроксилированными стеринами, содержатся практически во всех растительных объектах и к настоящему времени они обнаружены у растений, принадлежащих более чем к 100 семействам высших и низших растений (Балтаев., 2000; Володина

и др., 2010; Lafont, Dinan, 2003; Gorelick-Feldman, 2010; Lafont, 2012). Для фитостероидов установлена высокая биологическая активность (действуют в концентрациях 10^{-6} – 10^{-9}) и широкий спектр фармакологического действия, в том числе – выраженное адаптогенное (Дармограй и др., 2005; Володина и соавт., 2010; Сидорова, 2014).

Несмотря на широкую распространенность экистероидов в растениях, лишь очень немногие пригодны в качестве сырья для получения этих веществ, поскольку их содержание обычно составляет десятые или сотые доли процента (Балтаев, 2000; Тимофеев, 2011). В России единственным фармакопейным экистероидсодержащим растением является левзея сафлоровидная (*Leuzea carthamoides* (Willd.)), препараты из которой используются в клинической практике. Учитывая медико-биологическую значимость данного класса соединений, в настоящее время ведущими лабораториями разных стран проводится скрининг мировой флоры с целью идентификации видов продуцентов экистероидов.

Перспективным источником фитостероидов является левзея одноцветковая (*Fornicium uniflorum* L.) являющаяся растением сверхнакопителем этих ценных биологически активных веществ и имеющая достаточную сырьевую базу (Фитостероиды, 2003; Николаева и соавт., 2014). В Отделе биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН разработаны способы получения сухих экстрактов из подземной части (корневища с корнями) и надземной части (трава) *Fornicium uniflorum* L. Полученные экстракты представляют собой сумму экстрактивных веществ, представленных экистероидами, флавоноидами, полисахаридами, дубильными веществами, фенолкарбоновыми соединениями, аминокислотами, тритерпеновыми сапонинами, кумаринами, витаминами и др. биологически активными веществами (Николаева и соавт., 2014; Гармаева, 2016).

Целью диссертационной работы явилось определение адаптогенных свойств и фармакотерапевтической эффективности экстрактов *Fornicium un-*

iflorum L. корневищ и травы при экспериментальных стресс-индуцированных повреждениях.

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

- определить спектр фармакологических свойств экстрактов *F. uniflorum*,

- выявить влияние на устойчивость организма животных к действию экстремальных факторов различной природы;

- оценить влияние экстрактов *F. uniflorum* на функциональное состояние центральной нервной системы;

- определить фармакотерапевтическую эффективность экстрактов *F. uniflorum*

- определить особенности механизмов адаптогенного действия экстрактов *F. uniflorum*.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное экспериментальное исследование адаптогенных свойств, фармакотерапевтической эффективности и механизмов действия сухих экстрактов, полученных из корневищ и надземной части *F. uniflorum*. Установлено, что полученные экстракты *F. uniflorum* в экспериментально-терапевтических дозах 50, 100 и 200 мг/кг обладают выраженной адаптогенной активностью, повышая неспецифическую резистентность. Адаптогенные свойства сухих экстрактов превосходили таковые у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной. При этом по ряду параметров более выраженную адаптогенную активность проявил экстракт из подземной части *F. uniflorum*. Экстракты *F. uniflorum* способствуют повышению физической работоспособности животных, что обусловлено увеличением скорости ресинтеза АТФ, накоплением углеводных запасов в печени и мышцах, снижением выраженности метаболического ацидоза, улучшением доставки кислорода к работающим мышцам и активацией синтеза белка в скелетных мышцах и миокарде. Экстракты *F. uniflorum* проявляют также психотропное действие, повышая ориентировочно-исследовательское пове-

дение, уменьшая выраженность тревожности и эмоциональности животных в незнакомых условиях, а также ускоряют скорость выработки условных рефлексов. Испытуемые фитосредства обладают также иммунопротекторными свойствами, повышая активность иммунной системы животных при экспериментальной иммуносупрессии. Показано, что повышение неспецифической резистентности организма животных под их влиянием обусловлено ограничением гиперактивации стресс-реализующих систем (симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой) на фоне повышения активности эндогенной антиоксидантной системы, ограничивающей индукцию процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, что сопровождается повышением морфо-функциональной состоятельности мембранных структур клеток в условиях воздействия экстремальных факторов.

Практическая значимость. Выявленные адаптогенные свойства экстрактов *F. uniflorum* аргументируют целесообразность проведения полных доклинических исследований с целью внедрения их в клиническую практику в качестве средств, повышающих неспецифическую резистентность организма. Материалы диссертационной работы использованы при оформлении проектов нормативной документации на производство и применение экстракта *F. uniflorum* корневищ. Также полученные данные применяются в учебном процессе на кафедре фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского института ФГБОУ ВПО «Бурятский государственный университет» (акт внедрения №1 от 11.09.2016 г). На разработанный способ получения экстракта сухого *F. uniflorum* корневищ получен патент РФ (патент RU № 2582282 от 20.04.2016).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. курсовое введение экстрактов, полученных из подземной и наземной частей *F. uniflorum* оказывает стресс–протективное действие при мобилизационном и эмоциональном стрессе;
2. испытуемые экстракты обладают широким спектром адаптогенной активности, повышая устойчивость организма животных к действию интен-

сивных физических нагрузок, к кислороддефицитным состояниям различного генеза; оказывают анаболическое, мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие;

3. экстракты *F. uniflorum* оказывают стимулирующее влияние на функциональное состояние ЦНС: повышают ориентировочно–исследовательскую активность, снижают уровень тревожности и эмоциональности животных в незнакомых условиях, стимулируют когнитивные функции животных;

4. указанные экстракты оказывают иммуномодулирующее действие при иммуносупрессивном состоянии, повышая активность основных звеньев иммунной системы;

5. механизмы адаптогенного действия экстрактов *F. uniflorum* связаны с ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих и активацией стресс-лимитирующих систем организма;

6. периферические механизмы адаптогенного действия испытуемых средств обусловлены их способностью ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, повышать энергетический потенциал клеток и стимулировать процессы синтеза структурных и функциональных белков при стресс-индуцированных состояниях.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на IV Всеросс. научно-практ. конференции и междунар. участием «Развитие традиционной медицины в России». Улан-Удэ, 2014; VI международной научно-практической конф. «Экология. Здоровье. Спорт». Чита, 2015; международной научно-практической конф. «Current situation and future trends of drug research and development from natural sources. Ulaanbaatar, 2015; II и III международных научно-практических конференциях «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов». Кызыл, 2015; 2017; Всеросс. конф. «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования». М., 2017.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 3 - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК МО и науки РФ.

Работа выполнена в Отделе биологически активных веществ ИОЭБ СО РАН в соответствии с проектом № 146 «Разработка лекарственных и профилактических препаратов для медицины. Фундаментальные основы и реализация», утвержденным Президиумом СО РАН.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ СТРЕСС– ИНДУЦИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЙ И СРЕДСТВАХ, ОБЛАДАЮЩИХ АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

1.1. Современные представления об общем адаптационном синдроме и механизмах его формирования

Адаптация является универсальным свойством живой материи приспосабливаться к меняющимся условиям существования, в основе которой лежат механизмы, обеспечивающие сохранение постоянства внутренней среды организма. В основе учения об адаптации лежит теория К. Бернара (1878) о постоянстве внутренней среды, под которым он понимал «такое совершенство организма, чтобы внешние перемены в каждое мгновение компенсировались и уравнивались». Постоянство внутренней среды организм обеспечивает с помощью разнообразных сложных компенсаторно-приспособительных реакций. Основой адаптивных реакций на любые предъявляемые организму требования (физические, химические и эмоциональные воздействия) является стресс-реакция.

Концепция стресса была разработана в работах канадского ученого Ганса Селье (Selye, 1936; 1956; 1959; Селье, 1960). Позже Г.Селье охарактеризовал это явление как «общий адаптационный синдром», т.е. «общую неспецифическую нейрогормональную реакцию организма на любое, предъявленное ему требование». В общем виде стресс применительно к человеку можно определить как физиологическую реакцию, всегда возникающую при действии на него различных факторов или стрессоров, будь то физические стрессоры (холод, физическая нагрузка, недостаток кислорода в воздухе и т.п.) или психические (эмоциональные) стрессоры, которые обычно называют стрессорными ситуациями (опасность, аварийные или чрезвычайные ситуации, несчастье, неожиданное радостное известие,

конфликтные ситуации на работе или в семье, цейтнот и др.) (Меерсон, Пшенникова, 1988; Пшенникова, 2001; Пшенникова и соавт., 2006).

При первичном действии стрессора возникает стресс-реакция, или так называемая срочная (аварийная) адаптация, которая весьма расточительна и несовершенна и не обеспечивает организму эффективного устойчивого приспособления. Устойчивая «долговременная адаптация», характеризующаяся высокой резистентностью к стрессору, формируется лишь в результате повторных воздействий этого стрессорного фактора (Меерсон, 1981; 1988; Меерсон, Пшенникова, 1988; Пшенникова и соавт., 2006).

Стресс-реакция, впервые описанная Г. Селье (1936), включает целый комплекс координированных нейрогуморальных и метаболических изменений во многих органах и тканях, протекающих в трех стадиях, последовательно переходящих друг в друга, проявление которых не зависит от природы повреждающего агента» (Селье, 1960).

1 стадия – «реакция тревоги», во время которой мобилизуются защитные силы организма. Эта стадия длится 24-48 часов. Для нее характерно развитие т.н. «триады Селье» (гипертрофия надпочечников, инволюция тимико-лимфатической системы развитие кровоизлияний и язв в слизистой желудочно-кишечного тракта), а также ряд других патологических изменений (нарушения в клеточном составе крови, отечность, выход плеврального и перитонеального трансудата, гиперемия кожи, экзофтальм, слезотечение, саливация и др.). На этом этапе проявляются эффекты катехоламинов, кортикостероидов, а также других гормонов стресса: (ангиотензина II, вазопрессина, субстанция P) (Дворецкий и соавт, 1994; Головкин и соавт., 2012). Исследованиями последних лет показана важная роль усиления продукции оксида азота, обеспечивающего расширение сосудов в органах, ответственных за адаптацию (Малышев, Манухина, 1998; Bauersachs et al., 2002).

При большой силе стрессорного воздействия уже эта «реакция тревоги» может закончиться гибелью организма. Но если организм переносит эту стадию, то наступает вторая стадия.

2 стадия – «стадия резистентности» характеризуется повышением устойчивости организма к повреждающему воздействию. В эту стадию происходит нормализация деятельности желез внутренней секреции и тимико-лимфатической системы, а иногда даже повышение деятельности желез, угнетенных в первую стадию. Как отмечает Г. Селье : «если повреждающее действие было не столь сильным, то у животных возрастает резистентность и в более поздний период второй стадии вид и функции органов практически возвращаются к норме» (Селье, 1960).

3 стадия – «стадия истощения» наступает, если стрессорный фактор продолжает действовать на организм. В эту стадию происходит повторное угнетение защитных сил, организм теряет приобретенную резистентность. Характер деятельности эндокринных желез близок к тому, что наблюдается при реакции тревоги. В том случае, если стрессор достаточно силен и продолжает действовать, третья стадия неизбежно приводит к необратимым патологическим изменениям и гибели организма (Меерсон 1984; Lanks, 1986).

Г.Селье подчеркивал, что стресс-реакция характеризуется неспецифичностью, т.к. она возникает при действии на организм самых разнообразных стрессоров «механического, физического, биологического и психического характера» и представляет собой «обычные и закономерные ответы организма не только на прямое повреждающее действие, но и на любые другие стимулы» (Selye, 1959). Позже Г. Селье было предложено подразделять стресс на эустресс, положительно мотивированную реакцию и дистресс (полном), приводящий к патологии (Selye, 1974).

Общие механизмы развития стрессорных патологических изменений были исследованы отечественными учеными Ф. З. Меерсоном в конце 20-го столетия (1980 – 1990 гг.) при изучении стрессорных повреждений миокарда. В дальнейшем было показано, что эти механизмы носят неспецифичный

характер и проявляются при стрессорных повреждениях других органов (Барбой и соавт., 1992; Пшенникова, 2000).

В соответствии с современной концепцией, реализация стресс-реакции обеспечивается активацией высших регуляторных центров, которая объединяет определенные отделы нервной и эндокринной системы, т.н. стресс-реализующей системы. Эта система состоит из центрального звена и двух периферических ветвей, которые осуществляют связь центрального звена со всем организмом (Пшенникова, 2000; 2001; Пшенникова и соавт., 2006; LeBlanc, 1976; Guyton, 2006).

Центральное звено находится в гипоталамусе, запуская стресс-реакцию. Периферические ветви стресс-реализующей системы представлены гипоталамо-гипофизарно-адреналовой и симпато-адреналовой системой, эффекты которых опосредованы гормонами стресса: катехоламинами и кортикостероидами, продукция которых при стрессе может возрасти в 20-50 раз (Страчунский, Козлов, 1997; Чеснокова, 2006).

В результате развиваются эффекты этих гормонов: задержка выведения натрия и воды, стимуляция глюконеогенеза в печени, гипергликемия, угнетение синтеза белка, усиление процессов катаболизма (Юдаев, Утешева, 1976; Кэттайл, Арки, 2001; Киселёва 2013; White et al., 1978; Smith et al., 1983), инволюция иммунных органов, индукция апоптоза (Сумбаев, 2001; Огурцов и соавт., 2001), повышение чувствительности адренорецепторов к катехоламинам, угнетение иммунных реакций и снижение сопротивляемости инфекциям (Grand, 1967). Наряду с этим, катехоламины вызывают кальциевую перегрузку миокарда, вызванной повышением проницаемости мембран кардиомиоцитов для кальция и разобщением процессов окислительного фосфорилирования и развивающегося дефицита АТФ в миокарде (Bers, 2006; Yusuf, 2012; Wagner, 2013). Повышение концентрации внутриклеточного кальция в кардиомиоцитах приводит к т.н. «кальциевой триаде»: необратимым контрактурным повреждениям миофибрилл с изменением фазы диастолического расслабления, нарушениям функций митохондрий и активации миофибрилл-

лярных протеаз и митохондриальных фосфолипаз, что приводит к развитию очаговых некрозов миокарда (Akar, 2005). Гиперсекреция глюкокортикоидов приводит к атрофии тимико-лимфатической системы, и следовательно – к снижению иммунной защиты организма и развитию воспалительных заболеваний. Также под их влиянием усиливается липолиз, что приводит к повышению концентрации жирных кислот в крови, развитию атеросклероза и жировое перерождение печени (Gan, 2008).

Важное значение в реализации стресс-реакции имеют и другие отделы ЦНС: мезокортикальная, мезолимбическая дофаминовые системы, комплекс амигдала-гиппокамп, опиоидергическими нейронами аркуатного ядра гипоталамуса, участвующие в формировании эмоционального статуса при стрессе и формирующие эмоциональный стресс (Кассиль, 1983; Меерсон, Пшенникова, 1988; Levi, 1972).

Многочисленными исследованиями были изучены молекулярно-клеточные механизмы стресс-реакции. В частности, важное значение в развитии стрессорной патологии имеют последствия эффектов катехоламинов: повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} и Na^{+} , которое приводит к повреждениям структурно-функциональным повреждениям кардиомиоцитов, их гибели и развитию очаговых некрозов миокарда (Akar et al., 2005; Yusuf et al, 2012; Wagner et al, 2013). Кроме этого катехоламины приводят к активации ферментных систем клеток: липаз и фосфолипаз, активации Ca^{2+} -зависимых кальмодулин-протеиназ, протеинкиназы-С, цАМФ-протеинкиназы, что приводит к выходу из них кислых протеаз и нуклеаз и в результате повреждениям внутриклеточных структур, а также к разрывам молекул ДНК (Чеснокова и соавт., 2006; Меньщикова и соавт, 2008). Установлено также, что длительная интенсивная стресс-реакция сопровождается уменьшением соотношения коронадилататоров: простаглицлина (PGI_2), простаглицлина (PGE_1) и коронаконстриктора ($PGF_{2\alpha}$) и стимулятора тромбообразования (TXA_2), т.е. PGI_2/TXA_2 и $PGE_1/PGF_{2\alpha}$, что может вызывать тромбоз коронарных сосудов при ишемии (Пшенникова, 2001).

В настоящее время индукция процессов свободнорадикального окисления (СРО) считается неспецифическим молекулярно-клеточным механизмом патогенеза многих заболеваний, в связи с чем, широкое распространение в настоящее время приобрело понятие «оскидательного стресса». Активные формы кислорода (АФК) у живых организмов появляются в результате нормального клеточного метаболизма, в частности, в цикле Кребса (Владимиров, Арчаков, 1972; Зенков и соавт., 2001, Witko-Sarsat et al., 1999). При низкой и умеренной концентрации, они участвуют в физиологических процессах клетки, но при высоких концентрациях, они вызывают неблагоприятные изменения в клеточных компонентах, таких как липиды, белки и ДНК (Halliwell, 1999; Marnett, 1999; Stadtman, 2004). Активация процессов свободнорадикального окисления, в первую очередь процессы перекисного окисления липидов, сопровождаются нарушениями структурной организации клеточных и субклеточных мембранных структур, что приводит к нарушениям их функционирования и, как следствие – к их гибели (Зенков и соавт., 2001; Меньщикова и соавт., 2008; Bunn, 1996). Индукция СРО запускается в результате выделения супероксидного анион-радикала нейтрофилами, т.н. «нейтрофилезный взрыв», стимулированного высокими концентрациями катехоламинов (Чеснокова, 2006, Меньщикова, 2008). Окислительный стресс способствует развитию многих патологических состояний, в том числе и срыву адаптационных механизмов.

Системой, ограничивающей чрезмерную активацию стресс-реализующих систем, является стресс-лимитирующая система организма (Меерсон, 1986). В целом, успешная адаптация организма обеспечивается балансом указанных систем. Стресс–лимитирующая система обеспечивает включение срочных и долговременных механизмов адаптации, а также репарационной системы, ускоряющей восстановление повреждённых структур организма.

Стресс–лимитирующая система организма включает в себя центральное и периферическое звено. Центральное звено представлено тормозными

отделами ЦНС, ограничивающими выход стрессорных рилизинг-факторов. Тормозными медиаторами являются: ГАМК, дофамин, серотонин, глицин, опиоидные и другие тормозных пептиды. К периферическому звену относят антиоксидантную систему организма (АОС), системы адениннуклеотидов, простагландинов и др. (Меерсон, Пшенникова, 1988; Пшенникова, 2001; Меньшикова и соавт., 2008).

Ограничение активности центральных стресс–реализующих систем достигается за счет усиления выделения центральных тормозных медиаторов: γ – аминокислота (ГАМК), β –эндорфин, дофамин, серотонин, гормон шишковидного тела мелатонин (De Kloet E.R., 2004), которые ограничивают высвобождение гормонов стресса и оказывают угнетающее действие на высвобождение норадреналина в пресинаптическом нервном окончании. Нейроны, продуцирующие ГАМК локализованы в дорсомедиальном, паравентрикулярном, перифорникальном ядрах гипоталамуса, а также в амигдаларном комплексе (Carrasco at al., 2003). Стресс-лимитирующее действие ГАМК обусловлено ингибированием секреции гормонов и медиаторов стресса – кортикотропин-релизинг-фактора, АКТГ, вазопрессина, катехоламинов. Показано, что ГАМК-ергическая система имеется также и на периферии, обеспечивая пресимпатическую блокаду высвобождения стрессорных нейромедиатора - норадреналина из симпатических нервных окончаний (Пшенникова М.Г., 2001; Чеснокова и соавт., 2006). ГАМК также принимает участие в обменных процессах, являясь одним из продуктов «шунта Робертса», тесно связанного с циклом трикарбоновых кислот. В сердце этот механизм дополнительно обеспечивает образование янтарной кислоты торможением НАД-зависимого окисления α -кетоглутарата в ЦТК, что обеспечивает синтез АФТ при стрессе и нормальную работу сердца.

Важное значение в ограничении выделения гормонов стресса имеют опиоидные пептиды: энкефалины, эндорфины, динорфины. Стресс-лимитирующее действие этих пептидов связано с их способностью ограничивать чрезмерную активность симпатoadреналовой системы, а также подав-

лять выделение рилизинг-факторов и АКТГ (Слепухин, Золоторев, 1986; Лишманов и соавт., 1987). Предполагается, что опиоидные пептиды ограничивают также чрезмерную активацию лимбической системы, уменьшая эмоциональную составляющую стресс-реакции: возбуждение, тревога, страх (Кост соавт., 2010). Показано, что опиоидные нейропептиды оказывают кардиопротективное действие за счет способности снижать уровень внутриклеточного Ca^{2+} (Vlaskovska et al., 1997; Samways, Henderson, 2006; Feng Y, 2012), а также нормализуют сосудистый тонус за счет способности изменять соотношение вазодилиатирующих и вазоконтрикторных факторов, таких как NO и эндотелина-1 (Бебякова и соавт., 2010). Однако общий преобладающий эффект опиоидов на гомеостаз ионов

Стресс-лимитирующее действие показано для серотонина и простагландинов. Серотонин выделяется нейронами варолиева моста, а его стресс-протективное действие заключается в торможении адренергических центров (Порядин, 2009). Система простагландинов, включающая также тромбоксаны и простаглицлин, активируется одновременно в активации симпатoadренальной системы. Стресс-лимитирующее действие простагландинов заключается в их способности ингибировать процессы свободнорадикального окисления, уменьшать повреждения клеток, а также обладают способностью расширять коронарные сосуды (Хныченко, Сапронов, 2003; Барабой, 2004; Наймушина, 2009; Curtis-Prior, 2004).

Важным фактором периферического отдела стресс-лимитирующей системы организма является антиоксидантная система (АОС), представленная структурным и ферментным звеньями, обеспечивающая антирадикальную защиту клеточных структур (Меньщикова и соавт., 2006; Valko et al., 2006). Ферментами, ингибирующими процессы свободнорадикального окисления (СРО) являются супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, пероксидазы, глутатионзависимые пероксидазы, способные связывать активные формы кислорода и другие радикалы (Максименко, Ваваев, 2010; Лыско, Дудченко, 2013). К структурным антиоксидантам относятся: витамины А, С, Е и К, глутатион,

билирубин, убихиноны, триптофан и фенилаланинтрансферин, альбумины, фенольные соединения, стероидные гормоны, хелаторы ионов металлов переменной валентности (Меньщикова, 2008; Esterbauer et al., 1992; Frei, 1993;). Есть данные об антиоксидантной активности иммуноглобулинов (IgG) крови (Бунева и соавт., 2010). Антиоксидантная система, ограничивая стресс-реакцию, обеспечивает активацию репарационных систем, восстанавливающих поврежденные структуры путем элиминации и расщепления поврежденных молекул, активации процессов биосинтеза (в протеасомах), активации макрофагов и гепатоцитов и др. (Василенко, Невинский, 2003).

Исследованиями последних десятилетий было установлено, что при любом экстремальном воздействии в живом организме вырабатываются особые короткоживущие белки, названные белками теплового шока (БТШ; Heat Shock Proteins; Hsp_i), являющиеся факторами стресс-лимитирующей системы организма (Сапожников, 2003; Лебедев, 2007; Panossian et al., 2009, Wiegant et al., 2009). Стресс-белки (индуцибельные,) начинают активно синтезироваться в клетке после воздействия на нее стрессорами различной природы. Синтез этих белков при достаточной интенсивности стимула индуцируется уже через 10-20 минут после начала действия на организм неблагоприятного фактора, а время их существования ограничено несколькими часами или сутками. Установлено, что блокирование синтеза БТШ сопровождается нарушением процесса адаптации к стрессорному фактору, что приводит к развитию патологической стадии стресс-реакции (Зенков, 2001).

Процесс индукции БТШ может происходить в условиях дефицита АТФ и на фоне угнетения общего белкового синтеза. Hsp70_i, синтезированные в условиях стресса являются шаперонами, способными ограничивать стрессорные повреждения за счет ренатурации белков, поврежденных в результате стресса, дезагрегации аномальных белковых молекул, участия в утилизации поврежденных белков и увеличения мощности антиоксидантных систем [Меерсон, 1993, Андреева, 2006].

Одним из факторов, играющих важную роль в активации экспрессии генов Hsp, является NO. Существует гипотеза, что NO и Hsp70 образуют единую эндогенную протекторную систему [Малышев, Манухина, 1998; Пшенникова и соавт., 2006]. Показано, что при адаптации организма к таким факторам среды, как гипоксия, стресс и физическая нагрузка, синтез Hsp 70 активируется под влиянием NO [Малышев, Манухина, 1998]. В то же время имеются данные, что стресс-индуцированная генерация NO ингибирует митохондриальное дыхание, ингибируя цитохром P-450 и гликолиз, что приводит к истощению энергетических ресурсов, нарушению функций белков, развитию утомления и повреждения клеточных структур [Panossian et al., 2012, Wiegant et al., 2009]. По мнению Panossian, A. и Wikman G. [2010] стрессиндуцированная генерация NO ингибирует митохондриальное дыхание, блокирует окислительное фосфорилирование и, тем самым, вызывает развитие стадии истощения стресса.

БТШ участвуют в защите клеток от индуцируемого апоптоза, блокируя пути его активации, (Mosser et al., 1997), тормозят липолиз и свободнорадикальное окисление, стабилизируют клеточные структуры, нормализуют их функции при стрессорном воздействии (Пшенникова и соавт., 2006; Santoro, 2000). Один из их механизмов связан с их способностью связываться с денатурирующими белками, предотвращая их дальнейшее разрушение и способствуя их восстановлению (Miyata, Yahara, 1992; Li, Srivastava, 1993).

По мнению ряда авторов именно с БТШ связывают адаптационную стабилизацию клеточных структур, которая проявляется ограничением липолиза и перекисного окисления липидов, защитой митохондриальных и ядерных мембран, саркоплазматического ретикулума, лизосом (Агаджанян, Чижов, 2003). Осуществление адаптивных реакций за счет усиления синтеза короткоживущих белков имеет глубокий биологический смысл, поскольку высокие темпы синтеза и распада таких белков делают возможным быструю перестройку функциональных систем.

Таким образом, успешная адаптация организма к неблагоприятным факторам возможна лишь при соблюдении баланса между стресс-реализующими и стресс-лимитирующими системами организма. Однако при действии чрезмерных, либо длительных стрессорных факторов происходит истощение мощностей стресс-лимитирующих систем, в результате чего происходит трансформация реакции адаптации в реакцию дезадаптации, что приводит к развитию патологических состояний и т.н. «болезней цивилизации». Одним из путей решения данной проблемы является применение фармакологических средств – адаптогенов, повышающих неспецифическую резистентность организма.

1.2. Растительные адаптогены, фитоэкдистероиды и экдистероидсодержащие средства

В настоящее время с целью коррекции дезадаптационных состояний, и повышения неспецифической сопротивляемости организма широко применяются растительные средства, обладающие адаптогенными свойствами. Термин «адаптогены» в научный оборот впервые был введен Н.В.Лазаревым (1959, 1962), сформулировавшим концепцию о состоянии неспецифически повышенной сопротивляемости организма (СНПС), а лекарственные средства, вызывающие это состояние, были названы им «адаптогенами». Группа адаптогенов растительного происхождения очень многочисленна, многие из этих растений издревле применялись в народной и традиционной медицине в качестве общеукрепляющих, тонизирующих средств. Механизм же их действия долгое время оставался неизвестен. Научные исследования адаптогенных средств были начаты с конца 50-х годов XX в. и тогда же были сформулированы общие требования, предъявляемые к таким препаратам:

- большая широта терапевтического действия;
- безвредность при длительном применении;
- эффективность, независимая от глубины поражения;

- модуляция эффекта, т.е. возвращение измененных параметров к норме, независимо от того, в какую сторону эти параметры изменены (Брехман, 1964).

В России в качестве растительных адаптогенных средств разрешены к применению препараты женьшеня настоящего, элеутерококка колючего, родиолы розовой, лимонника китайского, левзеи сафлоровидной, аралии маньчжурской, заманихи высокой (Машковский, 2012). Они оказывают мягкое тонизирующее действие, которое проявляется в ослаблении симптомов общей астенизации, повышении физической и умственной работоспособности, уменьшении признаков утомления, повышении общей сопротивляемости организма к широкому спектру экстремальных воздействий.

Адаптогены растительного происхождения обладают рядом преимуществ перед химиотерапевтическими средствами, такими как широкий спектр фармакологической активности; плавное нарастание фармакологического эффекта, низкая токсичность и отсутствием неблагоприятных побочных реакций при длительном приеме (Сур, Гриценко, 2001). При этом следует отметить, что тонизирующее действие растительных адаптогенных средств принципиально отличается от стимуляторов (ЦНС), действие которых связано с прямым и косвенным адреномиметическим эффектом, сопровождаемым истощением резервных ресурсов организма, избирательной мобилизацией отдельных систем с одновременным снижением функциональной состоятельности систем защиты, например – иммунной. В связи с этим прием таких средств абсолютно противопоказан лицам старших возрастных групп, больным с заболеваниями сердечно-сосудистой и нервной систем, нарушениями обмена веществ, т.е. тем лицам, которые наиболее нуждаются в коррекции работоспособности.

В настоящее время известно, что механизмы действия растительных адаптогенов реализуются как на системном, так и на клеточном субклеточном уровнях. Одной из важных характеристик действия адаптогенов является их способность ограничивать выраженность стрессорных реакций организма

(Дардымов, 1976; Брехман, 1986; Копнин и соавт., 2010; Барнаулов, Осипова, 2012).

Центральные эффекты адаптогенов связаны с оптимизацией баланса стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем организма (Пшенникова, 2001; Sonnenborn, 1989). Адаптогенное действие связано, прежде всего, с ограничением гиперактивации нейроэндокринной оси стресса: симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой систем, за счет уменьшения выброса медиаторов и гормонов стресса: адреналина, норадреналина, АКТГ, кортизола, альдостерона (Тодоров, 2003; Panossian, Wagner, 2005). Одновременно с этим, растительные адаптогены способствуют активации центральных стресс-лимитирующих систем: тормозной ГАМК-ергической, серотининергической, опиоидной систем. В частности, активация опиоидной система связана со способностью адаптогенов увеличивать содержание эндогенных β -эндорфинов в крови (Яременко, 1990).

К периферическим эффектам растительных адаптогенов относится их антиоксидантная активность, наличие которой во многом обуславливает неспецифичность действия указанных лекарственных средств, поскольку для большинства патологических состояний триггерным механизмом является индукция процессов свободнорадикального окисления (СРО) в организме (Коган и соавт., 1991; Зенков и соавт., 2001), интенсивность которых определяется соотношением систем, активирующих ПОЛ, и систем, осуществляющих антирадикальную защиту. Следствием индукции процессов СРО является повреждение мембранных структур клеток с нарушением их морфофункционального состояния и развитие стресс-индуцированных патологических состояний (Меньщикова и соавт., 2006; 2008). Растительные адаптогены способны повышать эффективность эндогенных антиоксидантных систем, как ферментных, так и структурных (Тодоров и др., 2000; Singh et al., 1994), вследствие чего уменьшается интенсивность процессов свободнорадикального окисления и повышается морфо-функциональное состояние клеточных и субклеточных мембран (Brekhman, Dardimov, 1986; Wilson, 2007; Schriener et

al., 2009). Выраженные антиоксидантные свойства растительных адаптогенов связаны с наличием широкого спектра биологически активных веществ, прежде всего – фенольных соединений, обладающих прямыми антирадикальными свойствами, а также соединений, повышающих активность эндогенной антиоксидантной системы (Барабой, 1997; Sonnenborn, Propert, 1991; Panossian, Wikman, 2010).

Со стабилизацией клеточных и субклеточных структур связана также способность растительных адаптогенов активировать функции митохондрий, снижать расходы АТФ и гликогена в мышцах, повышается утилизация глюкозы клетками, мобилизация липидных депо и усиление использования липидов в качестве субстратов окисления при интенсивных физических нагрузках (Дардымов 1976; Avakian, 1984).

Под влиянием растительных адаптогенов наблюдается уменьшение выраженности нарушений углеводного, белкового и липидного обмена; нормализация основных функций организма при различных патологических состояниях; они оказывают противовоспалительное, радиопротекторное, противоопухолевое, противовирусное, антигипоксическое, капилляроукрепляющее действие (Гончаренко, 1991; Амосова и соавт., 1986; Яременко, 1990; Продиус и соавт., 1997; Яременко, Пашинский, 2003; Takeda et al., 1981; Nakagawa S., 1985 и др.). Также было установлено, что растительные адаптогены стимулируют умственную и физическую работоспособность, оказывают анксиолитическое и ноотропное действие (Арушанян, 2008; Panossian, Wagner, 2005, Panossian, 2013).

Для растительных адаптогенов также характерна выраженная иммуномодулирующая активность (Сюткина и соавт., 1992; Сафонова и соавт., 2001 и др.). В частности, в условиях иммуносупрессии, вызванной цитостатической терапией, рентгеновским облучением, анестезией, растительные адаптогены активируют выработку неспецифических и специфических факторов иммунитета, в том числе – продукцию эндогенного интерферона, повышают активность макрофагов, моноцитов, нейтрофилов и

естественных киллерных клеток (Грубова и соавт., 1992; Дранник и соавт., 1994; Давыдов и соавт., 1996, Комов и соавт., 1990; Fulder, 1977; Gupta, 1980).

В настоящее время в связи с поиском безопасных средств, предназначенных для повышения физической и умственной работоспособности, для повышения неспецифической сопротивляемости организма адаптогенные свойства выявлены у многих видов растений: подорожника, алоэ, шлемника байкальского, маакии амурской, логихилуса опьяняющего, леспедецы двуцветной, бадана тихоокеанского, почек березы и других (Разина и соавт., 1987; Зуева, Амосова, 1988; Поветьева, 2002; Нестерова, 2003 и др.).

Биологически-активные вещества, ответственные за фармакологический эффект растительных адаптогенов, достаточно обширны: полисахариды, фенольные соединения, тритерпеновые гликозиды, оксипирины (Дардымов, 1976; Барабой, 1997; Яременко, Пашинский, 2003; Panossian et al., 1999). В частности биологическая активность фенольных соединений и гликозидов обусловлена, тем, что они структурно подобны эндогенным медиаторам симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем, таким как катехоламины и глюкокортикоиды.

Адаптогенными свойствами обладает уникальная группа природных соединений – фитоэкистероиды, открытые в середине 60-х годов, когда они были впервые выделены и идентифицированы японскими учеными в листьях растения *Podocarpus nakaii* Hay. К настоящему времени фитоэкистероиды обнаружены у растений, принадлежащих более чем к 100 семействам высших и низших растений (папоротниках, грибах, мхаха, водорослях, голосеменных и покрытосеменных растениях) (Балтаев У.А., 2000; Володина С.О. и др., 2010).

Несмотря на широкое распространение экистероидов в растениях, лишь очень немногие пригодны в качестве сырья для получения этих веществ, в связи с тем, что их содержание обычно составляет десятые или со-

тые доли процента, что затрудняет их извлечение при использовании существующих технологий. Обычное их содержание составляет очень малую величину – менее 0.00001 %; примерно у 4-5 % растений – сотые и тысячные доли от сухого веса; лишь у незначительного числа видов мировой флоры концентрация достигает 0.5-1.5 % в расчете на сухую биомассу (Ecdysterone, 1989; Dinan, 2003).

Экдистероиды по химическому строению принадлежат к группе полигидроксилированных стероидов, обладающих структурой, подобной гормону линьки и метаморфоза у членистоногих. К настоящему времени идентифицировано около 500 различных структур экдистероидов из свыше 1 тыс. теоретически возможных (Wang S.F., Ayer S., Seagraves W.A. et al., 2000). Наиболее изучены несколько видов фитоэкдистероидов: ecdysterone (20-hydroecdysterone, 20E), ponasterone (ponA), muristerone (murA), 25-deoxyecdysterone, являющиеся истинными гормонами линьки и метаморфозы членистоногих (Kozlova T., Thummel C.S., 2000; Smith S., 1998).

Для фитоэкдистероидов установлена высокая биологическая активность: подобно истинным гормонам эти соединения действуют в сверхнизких концентрациях (10^{-6} – 10^{-9}) и проявляют широкий спектр фармакологического действия. В частности показано, что растительные экдистероиды регулируют обмен веществ (Сыров и соавт., 1975; Тимофеев, 2009; Uchiyama, Yoshida, 1974); проявляют сахароснижающее и гипохолестеринемическое действие; обладают гепатопротекторной, антибактериальной, противовоспалительной, ранозаживляющей, иммуностимулирующей, противоопухолевой, афродизиагической, антиоксидантной активностью и др. (Миронова В.Н. и др., 1982; Сыров, 1986; Тимофеев, 2009; Takashi., Nishimoto, 1992; Lafont, Dinan, 2003). Экдистероиды, подобно стероидным гормонам человека, обладают выраженной анаболической активностью, стимулируя биосинтез белка в тканях: в миокарде, печени и скелетных мышцах (Сыров, 1984; Тодоров, 2000; Slama et al., 1996).

Экспериментальными и клиническими исследованиями было выявлено наличие у фитостероидов адаптогенных свойств, в которых было установлено повышение стрессоустойчивость организма к различным видам экстремальных воздействий (Португалов и др., 1997; Дармограй и др., 2001; Сейфулла, 2003; Taniguchi et al., 1997).

Фундаментальные исследования связаны с определением молекулярно-клеточных механизмов действия фитостероидов. В отличие от насекомых у млекопитающих ядерные стероидные рецепторы до сих пор не найдены, поэтому в настоящее время нет единой гипотезы их действия. Показано, что молекулы стероидов, будучи липофильными, могут встраиваться в липидный бислой и их эффекты опосредованы системой вторичных мессенджеров (IP_3 , DAG, Ca^{2+} и др.) в результате активации мембранных белков (например G-белка) стероидами (Tuganova, Kotsyuruba, 1996; Raskin, 2009). Данный механизм обеспечивает быстронаступающий эффект стероидов. Другой механизм быстрого эффекта реализуется через модуляцию активности кальциевых, калиевых и натриевых ионных каналов (Tzertzinis et al., 2010). Кроме этого, стероиды могут выступать в роли лигандов в молекулярных системах переключения генов (эксон-индуцированные системы экспрессии генов) (Lafont, Dinan, 2003). Установлено, что фитостероиды могут взаимодействовать с тестостероном, образуя комплексы, которые взаимодействуют с ядерными рецепторами, в частности - ретиноидными X рецепторами, что обеспечивает их длительно действующий отсроченный эффект, связанный с активацией определенных генов и зависящий от типоспецифичности ткани (Verhaegen et al., 2010). В качестве ко-активатора стероида может выступать и протодиосцин (Gauthaman, Adaikan, 2002).

Из стероидсодержащих препаратов в России официально зарегистрированы: экстракт жидкий левзеи сафлоровидной (*Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin) на 70% спирте и препарат «Экдистен», разработанные в 80-х годах XX века в Институте химии растительных веществ АН Узбекистана. В

спиртовых извлечениях корневищ с корнями левзеи одноцветковой обнаружены полисахариды, экистероиды (в том числе 20-гидроксиэкдизон), дубильные вещества, флавоноиды (не менее 7 веществ), фенолкарбоновые кислоты (не менее 5 веществ), сапонины, аминокислоты, алкалоиды (Балтаев, 1991). Действующими веществами экстракта левзеи сафлоровидной являются фитоэкдизоны (Акопов, 1990; Балтаев, 1991; 2000). «Экдистен» - таблетки, содержащие в качестве действующего вещества 20-гидроксиэкдизон из подземных органов левзеи сафлоровидной (Генкина, 1993). Указанные препараты производятся из химически изолированных экистероидов, полученных методами биотехнологии (культуры клеток, тканей и генетически модифицированных корней).

Также были разработаны и внедрены в клиническую практику тонизирующие средства на основе экистероидсодержащих растений: «Леветон» - таблетки, содержащие порошок корней левзеи сафлоровидной, «Левзея» в виде драже; «Серпистен» - экстракт из надземной части *Serratula coronata L.*, а также три наименования биологически активных добавок на основе этого растения: «Кардистен», «Диастен» и «Адастен» (Ставрова, Оболенцева, 1992; Володина С.О. и др., 2010).

Указанные средства в медицинской практике применяют в качестве стимулирующих при функциональном расстройстве нервной системы (невротозы, неврастении и др.), умственном и физическом утомлении, пониженной работоспособности, а также здоровым лицам при астении, пониженной работоспособности, в периоды вспышек инфекционных заболеваний (Машковский, 2012). Анаболические свойства экистероидсодержащих средств обуславливают их использование в профессиональном спорте в силовых и скоростных видах для повышения физической выносливости. При этом их не сопровождается развитием побочных эффектов в отличие от синтетических стероидов тестостеронового ряда (Португалов и соавт., 1996; Сейфулла и соавт., 1997; 1999; Сейфулла, 2003).

Таким образом экистероидсодержащие растения, обладая широким спектром фармакологического действия, являются перспективным сырьем для получения высокоэффективных адаптогенных средств. Однако, несмотря на широкое распространение фитоэкистероидов в растениях, лишь очень немногие из них пригодны в качестве экистероидсодержащего сырья, в связи с тем, что их содержание обычно составляет десятые или сотые доли процента. В этой связи в мировой флоре ведется активный поиск растений – накопителей и сверхнакопителей экистероидов. Одним из таких растений является левзея одноцветковая (*Fornicium uniflorum* L.)

1.4. Сведения о левзее одноцветковой

(*Fornicium uniflorum* L.)

Левзея одноцветковая - *Fornicium uniflorum* L. Прежние видовые названия данного растения: *Leuzea uniflorum* L., *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC., *Stemmacantha uniflora* (L.) Dittrich. Народное название – большеголовник одноцветковый.

Fornicium uniflorum L. – крупное травянистое многолетнее растение высотой до 80 см. Относится к роду *Fornicium*, семейство *Asteraceae*. Растение произрастает на сухих склонах, каменистой почве, песчаных берегах рек; широко распространено в Восточной Сибири, Дальнем Востоке России; Северной Монголии и Северо-Восточном Китае (Воробьева, Горовой, 2005; Горовой, 2010; Санданов, 2016).

F. uniflorum произрастает на сухих склонах, преимущественно горно-степных. Вид широко распространен в составе разнообразных типов степей, а также в составе разнотравных и светлохвойных лесов, расположенных в близких поясных условиях. На территории Забайкалья вид встречается преимущественно в южных районах (Санданов, 2016).

Запасы сырья в шести изученных ценопопуляциях в Республике Бурятия составили от 23,84 до 42,88 г/м², а для корневищ с корнями - 91,87 г /м². Эксплуатационный запас *F. uniflorum* травы в исследуемых зарослях соста-

вил 1277,84 кг; возможный объем заготовки – 255,58 кг; для *F. uniflorum* корневищ с корнями эксплуатационный запас сырья составил 603,76 кг, а возможный объем заготовки - 120,75 кг. (Гармаева, 2016).

При изучении химического состава *F. uniflorum* установлено, что в растении содержатся сесквитерпеноиды: в подземной части – рапонтикол; в надземной части – гермакрен D, цинаропикрин, α -метакрилат дезацилцинаропикрина, эпокси- α -метакрилат дезацилцинаропикрина (Huneck, Knapp, 1986; Wei et al., 1997); дитерпеноиды: в подземной части – диосбульбин-B; в надземной части – фитол (Huneck, Knapp, 1986; Liu, 1998, цит. по Zhang et al., 2010; Liu et al., 2004); тритерпеноиды: в подземной части – урсоловая, олеаноловая, помоловая, арьюновая, торментовая куислоты, 3-оксо-19 α -гидроксиурс-12-ен-28-овая кислота, 2 α ,3 α ,19 α -триг-Видроксиурс-12-ен-28-овая кислота, 2 α ,3 α ,19 α ,25-тетрагидроксиурс-12-ен-23,28-диовая кислота, 2 α ,3 α ,19 α ,25-тетрагидрокси урс-12-ен-23,28-диовая кислота, розмутин, сависсимозид R₁, хедерагенин, зиюгликозид I, зию-гликозид II, 28-O- β -D-глюкопиранозилловый эфир помоловой кислоты, β -D-глюкопиранозилловый эфир 3-O-[α -L-арабинопиранозил]урс-12,18(19)-диен-28-овой кислоты, β -D-глюкопиранозилловый эфир 3 β -гидроксиурс-12,19(29)-диен-28-овой кислоты, 28-O-[β -D-глюкопиранозилловый] эфир 3-O-[α -L-арабинопиранозил]урс-9(11),12-диен-28-овой кислоты (унифлорозид) (Wang et al., 1999, цит. по: Zhang et al., 2001b, 2002a, b, 2005, 2009).

Обнаружены и идентифицированы экистероиды. В подземной и надземной частях растения содержатся: экистерон, даукостерин, унифлорестон. В корневищах – β -ситостерин, стигмастерин, рапностерон, рапонтистерон, туркестерон, экистерон-20,22-моноацетонид, 11 α -гидроксиэкистерон, аюгастерон C, аюгастерон C-20,22-моноацетонид, аюгастерон C-2,3;20,22-диацетонид, аюгастерон-2,3;20,22-диацетонид, 5-дезоксикаладастерон-20,22-ацетонид, 3-O- β -D-глюкопиранозид и 25-O- β -D-глюкопиранозид экистерона, 5-дезоксикаладастерон-20,22-моноацетонид, 25-дезоксиде-9(11)-дегидро-20-гидроксиэкистерон-20,22-моноацетонид, рапонти-

стерон R₁. В траве растения обнаружены: α-экдизон, β-экдизон, витикостерон E, рубростерон (Zhang et al., 2010; Wei et al., 1997; Liu, Li, 1998, Li et al., 1998, 2000; Deng, Wei, Wei, 2000; Wang et al., 2001; Zhang, Wang, 2001; Song, Sik, 2004).

Также обнаружены тиофены: в подземной части – арктовая кислота, арктиналь, арктинон-а, арктинон-б, рапontiениленол, 2-(пента-1,3-диинил)-5-(3,4-дигидроксидибут-1-инил) тиофен, 7-хлороактинон-б, рапontiинтиофен А, рапontiинтиофен В (Liu Et al., 1996, цит. по Zhang et al., 2010; Wei et al., 1997; Zhang et al., 2010; Wei. et al., 1997; Zhang et al., 2002a; Liu, Guo 2008); высшие жирные кислоты и их производные: в подземной части – гексадекановая, тетракозановая кислоты, метиллинолеат (Wang, 2008), пальмитиновая кислота (Гармаева, 2016); в надземной части – пальмитиновая, стеариновая, эйкозановая, бегеновая, Melissaовая кислоты (Гармаева, 2016); в подземной части – диоктилфталат (Wang, 2008); фенолкарбоновые кислоты – 3,3',4'-триметокситэллаговая (Zhang et al., 2001b, 2002a); катехины (Zhang et al., 2001b); фурфурол (Wang H., 2008); полиненасыщенные жирные кислоты - в корневищах с корнями: линоленовая, олеиновая кислоты; в траве содержится линоленовая (Гармаева, 2016); алкалоиды (Куваев, Блинова, 1961; Гармаева, 2016); флавоноиды (Шретер, 1964; Гармаева, 2016); каротиноиды и катехины – только в надземной части (Гармаева, 2016); макро - и микроэлементы (всего 28), в том числе – йод, который в большей степени накапливается в листьях растения (Гармаева, 2016); углеводы: в корневищах с корнями - полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлоза А и Б (Гармаева, 2016); органические кислоты, дубильные вещества, аскорбиновая кислота, аминокислоты, белок (Гармаева, 2016).

Экспериментально установлено, что полисахариды растения обладают иммуномодулирующими свойствами (Li. et al., 2007), блокируют дифференциацию адипоцитов (Li et al., 2009), что аргументирует применение препаратов из *F. uniflorum* для лечения заболеваний иммунной системы.

В монгольской медицине корневища с корнями *F. uniflorum* применяются в сборах при острых и хронических заболеваниях кишечника, опухолях желудка, рвоте, лихорадке; препараты из соцветий растения – при атрофии и опухолях мышц (Хайдав, Меньшикова, 1978; Дикорастущие ..., 1985). В тибетской медицине надземная часть растения используется в качестве средства, регулирующего обменные процессы, а также как ранозаживляющее средство (Дикорастущие ..., 1985). В народной медицине Забайкалья свежие листья наружно применяют в качестве ранозаживляющего средства (Шретер, 1975). Препараты *F. uniflorum* имеют широкое применение в Китае в качестве противовоспалительных средств, используют при заболеваниях почек, при острых и хронических заболеваниях кишечника, при нарушениях обменных процессов, при опухолях желудка, рвоте, лихорадке, при пневмониях, плевритах, острых респираторных заболеваниях, малярии и гастроэнтеритах, при лечении атрофии мышц, для лечения и профилактики сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а также при лечении онкологических заболеваний для улучшения переносимости химиотерапии и повышения ее эффективности. Также в профессиональном спорте используют тонизирующие и анаболические свойства *F. uniflorum* для повышения физической выносливости, профилактики переутомления и восстановления работоспособности после интенсивных физических нагрузок.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Описание объектов исследования

Экстракты сухие были получены из надземной и подземной частей *Fornicium uniflorum* L. Растительное сырье заготавливали в период массового цветения растений в начале июля 2012 – 2015 гг. в Республике Бурятия (Иволгинском, Селенгинском районах) и в Забайкальском крае (Акшинском, Могойтуйском, Оловяннинском районах).

Способ получения экстракта сухого из корневищ с корнями *F. uniflorum* заключается в измельчении сырья до 1 мм и последующей трехкратной экстракции при температуре 70°C при отношении 1 мас.ч. сырья : 12 об.ч экстрагента. Первый контакт фаз 60%-ым этиловым спиртом в течение 90 мин, второй и третий контакт фаз водой очищенной в течение 60 минут. Объединенные водно-спиртовые извлечения фильтруют, упаривают, очищают сепарированием, доупаривают, затем высушивают в вакуум-сушильном аппарате (Гармаева, 2016).

Способ получения экстракта сухого из корневищ с корнями *F. uniflorum* запатентован (Патент РФ, 2016). На способ получения экстракта сухого из надземной части растения готовится патентная заявка.

Сухие экстракты представляют собой аморфный порошок коричневого цвета со специфическим запахом, хорошо растворяются в воде.

Основными действующими веществами являются экидистероиды. Установлено, что в надземной части растения содержится большее количество этих биологически активных веществ, чем в подземной части растения. Стандартизация экстракта сухого из корневищ с корнями *F. uniflorum* осуществляется по сумме экидистероидов в пересчете на экидистерон, содержание которого должно быть не менее 3,0% (Гармаева, 2016).

Перед экспериментами экстракты растворяли в дистиллированной воде. Животным вводили внутривентрикулярно 1 раз в день в объеме 10 мл/кг за 1 час до кормления однократно и многократно в зависимости от условий экс-

перимента. Водный раствор экстракта *F. uniflorum* животным вводили в дозах 50, 100 и 200 мг/кг. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды. В качестве препарата сравнения использовали dealкоголизированный экстракт жидкий левзеи сафлоровидной, содержащий экидистероиды и обладающий адаптогенными свойствами. Препарат сравнения вводили внутривентрикулярно в экспериментально-терапевтической дозе 5,0 мл/кг по аналогичной схеме (Сыров, 1987).

2.2. Характеристика лабораторных животных

Экспериментальная работа выполнена с использованием 356 белых крысах линии Wistar обоего пола массой 160 – 200 г; 32 неполовозрелых крыс обоего пола с исходной массой 70 - 80 г; 40 мышах самцах линии СВАхС57В1/6 массой 20 – 22 г. Животные содержались в виварии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН в соответствии с «Правилами лабораторной практики» (GLP) и Приказом МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Группы животных были сформированы с учетом правил рандомизации: по полу, возрасту и массе. Расброс по массе составил не более 10%.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР №755 от 12.08.77 г.) и «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986).

Лабораторных животных выводили из экспериментов методом мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом. Дизайн исследования и протокол экспериментальной апробации согласованы с этической комиссией Института общей и экспериментальной биологии СО РАН 28.01.2014 г.

В экспериментах также были использованы модельные системы: суспензия эритроцитов, суспензия липосом и биохимические тест-системы. Суспензию эритроцитов готовили из свежей эритроцитарной массы донор-

ской крови путем трехкратного отмывания в физиологическом растворе в соотношении 1:10 и центрифугирования при скорости 1,5 тыс. об/мин в течение 10 мин. (Дубинина, 1983). Суспензию липосом получали из свежего куриного яичного желтка путем суспендирования с фосфатным буфером (pH 7,4) в соотношении 1:10 на магнитной мешалке в течение 15 мин.

2.3. Модели и методы исследований

Для определения острой токсичности использовали общепринятый метод Кербера. Наблюдение за общим состоянием подопытных животных и их поведением осуществляли в течение 14 дней. Регистрировали видимые признаки интоксикации: поведение, двигательную активность, характер дыхательных движений, состояние волосяного и кожного покрова, окраску слизистых оболочек, потребление корма и воды, количество и консистенцию фекальных масс, частоту мочеиспускания и окраску мочи. На 14 сутки эксперимента осуществляли эвтаназию животных под эфирным наркозом и проводили макроскопический осмотр внутренних органов с помощью бинокулярной лупы. При расчете DL_{50} пользовались формулой Кербера (Беленький, 1963): $DL_{50} = DL_{100} - \sum (Z \times D) / m$; где:

D - интервал между каждыми двумя смежными дозами;

Z - среднее арифметическое из числа животных, у которых наблюдался учитываемый эффект под влиянием каждой двух смежных доз;

m - число животных в каждой группе.

Модель иммобилизационного стресса воспроизводили общепринятым методом путем фиксации животных в положении на спине в течение 18 ч (Юматов, Скоцеляс, 1979). Модель эмоционального стресса воспроизводили путем погружения иммобилизованных животных (заключенных в цилиндрические пеналы) в бассейн на 4 часа (Overmier et al., 1986).

Для оценки стресс-протективной активности определяли выраженность «триады Селье»: гипертрофию надпочечников, инволюцию иммунокомпетентных органов (тимуса и селезенки), а также оценивали количество повре-

ждений в слизистой оболочке желудка, которые подразделяли на точечные кровоизлияния, эрозии и полосовидные язвы. Для каждого вида повреждений подсчитывали «индекс Паулса» (ИП) по формуле (Амосова и соавт., 1998):

$$\text{ИП} = \frac{A \times B}{100};$$

где: А - среднее количество деструкций в группе;

В - процент животных с повреждениями в группе.

Для воспроизведения кислороддефицитных состояний использовали модели гиперкапнической, гемической и тканевой (гистотоксической) гипоксии. Гиперкапническую гипоксию моделировали путем помещения животного в герметично закрытую камеру объемом 1000 см³ (Воронина и соавт., 2012 а). Модель гемической гипоксии воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения животным водного раствора натрия нитрита в дозе 70 мг/кг (Костюченков, Фарашук, 1982). Гистотоксическую гипоксию у животных вызывали однократным внутрибрюшинным введением натрия нитропруссида в дозе 20 мг/кг (Лукьянова, 1989). Для оценки антигипоксической активности определяли продолжительность жизни животных в кислороддефицитных условиях.

Модель интенсивных физических нагрузок воспроизводили общепринятым методом плавания белых крыс с грузом, составляющим 7% от массы тела, в бассейне при температуре воды 28 °С. Для оценки актопротекторного действия испытуемого фитосредства определяли время плавания животных до полного утомления, критерием которого служило погружение животного под воду в течение 10 секунд.

Для определения влияния испытуемых фитосредств на поведенческую активность использовали общепринятые тесты: «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «светлая/темная камера» (Воронина и соавт., 2012 б). При исследовании поведенческой активности в тесте «открытое поле» регистрировали число пересеченных периферических и центральных квадратов (горизонтальная активность), число подъемов на задние лапки

(вертикальная активность), число дефекаций, груминг, число заглядываний в норки (норковый рефлекс). Об общей двигательной активности судили по сумме горизонтальной, вертикальной двигательной активности и норковому рефлексу. Для определения поведенческой активности животных в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» регистрировали количество посещений и время пребывания на «открытых» и «закрытых лучах» лабиринта; количество «свешиваний» и количество вертикальных стоек. В тесте «светлая/темная камера» определяли число переходов между светлым и темным отсеком в течение 5 минут, а также длительность пребывания в них.

Влияние средства на процессы обучения и памяти исследовали по выработке и сохранности условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) (Островская и соавт., 2012). Для этого регистрировали количество животных с выработанным рефлексом через 1 час, 24 часа и 3 суток после обучения.

Модель конфликтной ситуации воспроизводили по Vogel, сталкивая питьевую и оборонительную мотивации животных (Воронина и соавт., 2012). О выраженности анксиолитического действия определяли количество наказуемых взятий воды животными.

Модель иммунодефицитного состояния воспроизводили путем внутрижелудочного введения цитостатика азатиоприна в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки в течение 5 дней (Лазарева, Алехин, 1985). Определяли действие средств на состояние клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа.

Действие на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике локальной ГЗТ (Руководство ..., 2012). Мышей сенсibilизировали внутрибрюшинным введением 0,1% взвеси эритроцитов барана (ЭБ) в физиологическом растворе. На 4 сутки под подошвенный апоневроз задней лапки вводили разрешающую дозу антигена – 50 мкл 50% взвеси ЭБ. В контрлатеральную лапку инъецировали физиологический раствор в том же объеме. Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 часа по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ (I_p) рассчитывали по фор-

муле: $I_p = [(M_{оп} - M_k) / M_k] \times 100\%$, где $M_{оп}$ – масса опытной лапы, M_k – масса контрольной лапы. Количество антителообразующих клеток (АОК), которые определяли с помощью метода локального гемолиза по A.J. Cunningham (1965). О состоянии макрофагального звена иммунного ответа судили по реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши (Хаитов и соавт., 2012 а).

Для оценки наличия анаболических свойств испытуемые фитосредства вводили неполовозрелым крысам и определяли прирост массы тела, а также оценивали массу четырехглавой мышцы бедра, сердечной мышцы и печени.

В сыворотке крови и гомогенатах тканей определяли ряд биохимических показателей. Концентрацию стрессорных гормонов (адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортикостерона, альдостерона, адреналина, норадреналина и дофамина в крови) определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием анализаторов “DSX” (США) и «STAT FAX–2100» (США). Содержание АТФ определяли в гомогенатах скелетной и сердечной мышц (Алейникова, Рубцова, 1988); концентрацию молочной и пировиноградной кислот определяли в сыворотке крови (Колб, Камышников, 1976); содержание гликогена определяли в гомогенате печени (Seifter, 1950). В гомогенате скелетной мышцы определяли содержание общего белка (Bradford, 1976); концентрацию нуклеиновых кислот (РНК и ДНК) оценивали с помощью метода Блобеля и Поттера в модификации М.Г. Трудюлюбовой (Трудюлюбова и соавт., 1977). Содержание соматотропного гормона (СТГ) в плазме крови определяли методом на анализаторе «STAT FAX–2100» (США).

В сыворотке крови определяли содержание глюкозы, общего белка, холестерина, липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), триацетилглицеридов (ТАГ), холестерина, активность лактакдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК) с использованием биохимического анализатора «Sapphire 400» (Япония).

Для оценки интенсивности процессов свободнорадикального окисления (СРО) определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (Темирбулатов, Селезнев, 1981). Влияние на состояние эндогенной антиоксидантной системы (АОС) оценивали по активности супероксиддисмутазы (СОД) (Чевари и соавт., 1985), каталазы (Королюк и соавт., 1988) и содержанию восстановленного глутатиона (ВГ) в сыворотке крови (Anderson, 1989).

Мембраностабилизирующую активность определили по степени перекисного и осмотического гемолиза эритроцитов (Ковалев и соавт., 1986). Антирадикальную активность определили по отношению к супероксидным радикалам (Chen A.S. et al., 2003); по отношению к NO (Govindarajan R. et al., 2003); по отношению к радикалу DPPH (Seyoum A. et al., 2006). Для оценки хелатирующей активности использовали о-фенантролиновый метод (Теселкин и соавт., 1997).

Полученные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента (Сергиенко, Бондарева, 2001). Различия считали достоверными при $P \leq 0,05$.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТОВ *FORNICIUM UNIFLORUM* L.

В серии предварительных экспериментов было проведено изучение **острой токсичности экстрактов *F. uniflorum***.

Исследование проведено на крысах линии Wistar обоего пола массой 200 - 220 г. Определение острой токсичности осуществляли по методу Кербера. Водный раствор экстракта *F. uniflorum* вводили однократно внутрижелудочно и внутрибрюшинно в диапазоне доз 3500 - 10000 мг/кг в объеме 10 мл/кг. Наблюдение за общим состоянием животных и их поведением осуществляли в течение 2-х недель, в первые сутки после введения животные находились под постоянным наблюдением.

Установлено, что при внутрижелудочном введении сухих экстрактов из надземной и подземной частей *F. uniflorum* в максимально возможных дозах гибели животных не наблюдалось на протяжении всего периода наблюдения. При внутрибрюшинном введении DL₅₀ сухих экстрактов из надземной и подземной частей составила соответственно 5800 мг/кг и 9500 мг/кг. Животные погибали преимущественно на 1-2 сутки с момента введения испытуемого средства. При этом, в первые часы после введения сухих экстрактов в наиболее высоких дозах наблюдали признаки интоксикации в виде снижения двигательной активности, тахикардии, учащения дыхания. В последующем у, дыхание становилось поверхностным, появлялась цианотичность видимых слизистых оболочек, подергивания отдельных групп мышц, а также развивались судороги клонико-тонического характера. Гибель животных наступала при остановке дыхания. При последующем вскрытии животных наблюдался экссудат в брюшной полости и кровоизлияния в грудную полость, свидетельствующие о развитии токсического шока.

Таким образом, полученные результаты позволяют отнести сухие экстракты из надземной и подземной частей *R. uniflorum* к группе практически

нетоксичных веществ в соответствии с действующими классификациями (Сидоров, 1973; Hogde, Sterner, 1975).

3.1. Исследование стресс-протективной активности экстрактов

***Fornicium uniflorum* L.**

3.1.1. Влияние на устойчивость к иммобилизационному стрессу

Эксперименты проведены на белых крысах линии Wistar обоего пола массой 180–200 г. Иммобилизационный стресс воспроизводили путем фиксации животных в положении на спине в течение 18 ч (Юматов, Скоцеляс, 1979). Животные были разделены на 5 групп: 1 гр. – интактные животные; 2 гр. – контрольная; 3 гр. – опытная 1, получали экстракт из корневищ *F. uniflorum* (*F. uniflorum* корни); 4 гр.- опытная 2, получали экстракт из надземной части *F. uniflorum* (*F. uniflorum* трава); 5 гр. – опытная 3, получали препарат сравнения экстракт левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*). Испытуемые средства вводили в виде водных растворов внутривентрикулярно в дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг профилактически в течение 7 дней до стрессорного воздействия, 1 раз в день за 30 минут до кормления. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Экстракт жидкий левзеи сафлоровидной перед введением деалкоголизировали и использовали в дозе 5,0 мл/кг по аналогичной схеме. На 7 сутки эксперимента животных контрольной и опытных групп подвергали иммобилизационному стрессу, после чего животных декапитировали под легким эфирным наркозом и определяли выраженность стресс-индуцированных изменений во внутренних органах: гипертрофию надпочечников, состояние иммунокомпетентных органов и появление деструктивных повреждений в слизистой оболочке желудка с подсчетом «язвенного индекса Паулса» (Амосова и соавт., 1989). Также определяли выраженность свободнорадикальных процессов и состояние эндогенной антиоксидантной системы. Для этого в сыворотке крови определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (Темирбулатов, Селезнев, 1981), активность супероксид-

дисмутазы (СОД) (Чевари и соавт., 1985), активность каталазы (Королюк и соавт., 1988), содержание восстановленного глутатиона (ВГ) (Андерсон и соавт., 1977). Полученные данные приведены в таблицах 3.1.1.1- 3.1.1.3.

Как следует из данных, представленных в таблице 3.1.1.1, 18-часовой иммобилизационный стресс у белых крыс сопровождается развитием классической «триады Селье», в виде гипертрофии надпочечников, инволюции иммунокомпетентных органов, появлением язвенных повреждений в слизистой оболочке желудка. У животных опытной группы, получавших экстракт корневищ *F. uniflorum* масса надпочечников была на 40% меньше, чем в контроле, а масса тимуса и селезенки была соответственно на 80 и 67% больше аналогичных показателей у крыс контрольной группы и практически оставалась на уровне физиологической нормы. Эффективность указанного экстракта по показателям инволюции иммунокомпетентных органов была выше, чем у препарата сравнения; а по показателю влияния на массу надпочечников эффективность экстракта левзеи одноцветковой была аналогичной таковой у препарата сравнения. При изучении стресс-протективной активности экстракта *F. uniflorum* травы установлено, что эффективность по признакам гипертрофии надпочечников и инволюции иммунных органов была аналогичной таковой у экстракта, полученного из корневищ растения. Различия были в пределах статистической ошибки. Вместе с этим, антистрессорная активность этого экстракта была выше таковой у препарата сравнения.

Таблица 3.1.1.1 - Влияние экстрактов *F. uniflorum* на выраженность признаков «триады Селье» у белых крыс при 18-часовом иммобилизационном стрессе

N	Группы животных	Относительная масса органов (мг/100г)		
		тимус	селезенка	надпочечники
1	Интактная (n=8)	33,5±1,08	425,0±28,55	14,3±1,34
2	Контрольная (n=8) (стресс+ H ₂ O)	16,8±1,57	316,5±27,42	26,4±1,83

Продолжение таблицы 3.1.1.1				
1	2	3	4	5
3	Опытная 1 (n=8) (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни)	30,3±2,52*	398,0±30,43*	15,8±1,07*
4	Опытная 2 (n=8) (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава)	31,5±1,47*	421,3±25,6*	17,0±0,85*
5	Опытная 3 (n=8) (стресс+ <i>R. carthamoides</i>)	20,5±1,68*	354,7±26,40*	17,3±1,46*

Наряду с этим, превентивное введение экстрактов *F. uniflorum* оказывало выраженное гастропротективное действие, задерживая развитие глубоких деструкций слизистой оболочки желудка белых крыс (табл. 3.1.1.2.).

Таблица 3.1.1.2 – Влияние экстрактов *F. uniflorum* на выраженность повреждений слизистой оболочки желудка белых крыс при 18–часовом иммобилизационном стрессе

Показатели	Группы животных				
	Ин- тактная (n=8)	Кон- трольная (n=8) (стресс+ H ₂ O)	Опытная 1 (n=8) (стресс+ <i>F. uniflorum</i> кор- ни)	Опытная 2 (n=8) (стресс+ <i>F.</i> <i>uniflorum</i> трава)	Опытная 3 (n=8) (стресс+ <i>R. cartha-</i> <i>moides</i>)
1	2	3	4	5	6
Кровоизлияния, %	0	100	40	40	50
Среднее число кровоизлияний на 1 крысу	0	4,8	2,5	2,5	2,7
ИП для кровоиз- лияний	0	0,38	0,12	0,12	0,13
Эрозии, %	0	60	0	10	30
Среднее число эрозий на 1 крысу	0	2,6	0	0,3	0,6

Продолжение таблицы 3.1.1.2					
1	2	3	4	5	6
ИП для эрозий	0	0,13	0	0,03	0,02
Язвы полосовидные, %	0	50	0	0	0
Среднее число язв на 1 крысу	0	1,0	0	0	0
ИП для язв	0	0,04	0	0	0

Как следует из данных, представленных в таблице 3.1.1.2, у животных контрольной группы на фоне 18-часового иммобилизационного стресса отмечалось развитие существенных повреждений слизистой оболочки желудка в виде точечных кровоизлияний, эрозий и полосовидных язв. У крыс опытной группы, получавших экстракт из корневищ *F. uniflorum*, были обнаружены точечные кровоизлияния у 3-х животных из 8, соответственной индекс Паулса составил 0,12 против 0,38 у крыс контрольной группы. Экстракт, полученный из надземной части *F. uniflorum*, проявлял аналогичную активность по отношению к точечным кровоизлияниям. Более умеренное действие было обнаружено по отношению к эрозиям: у одной крысы они были обнаружены. Вместе с этим, противоязвенная активность изученных экстрактов *F. uniflorum* по отношению к эрозиям превосходила таковую у препарата сравнения: у трех крыс, получавших экстракт лезеи сафлоровидной, были обнаружены эрозии. Развития более глубоких повреждений желудка в виде полосовидных язв у крыс опытных групп отмечено не было.

В таблице 3.1.1.3. представлены результаты изучения влияния экстрактов *F. uniflorum* на интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СРО) и состояние эндогенной антиоксидантной системы (АОС) у животных, подвергнутых иммобилизационному стрессу.

Таблица 3.1.1.3 - Влияние экстрактов *F. uniflorum* на показатели СРО и состояние АОС белых крыс при 18-часовом иммобилизационном стрессе

Показатели	Группы				
	Интактная n=8	Контрольная (стресс) n=8	Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни) n=8	Опытная 2 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава) n=8	Опытная 3 (стресс+ <i>R. carthamoides</i>) n=8
МДА, мкмоль/л	4,8±0,21	10,3±0,55	7,3±0,15*	5,7±0,61*	7,8±0,62*
Восст. глутатион, ммоль/мл	1,13±0,04	0,56±0,024	0,75±0,03*	0,78±0,02*	0,75±0,05*
Каталаза, мкат/л	25,5±1,13	15,4±0,97	20,3±2,05*	23,5±1,58*	25,8±1,54*
СОД, ед. активности	11,2±0,78	4,3±0,31	7,4±0,23*	9,3±0,47*	6,8±0,27*

Установлено, что иммобилизационный стресс сопровождается выраженной индукцией процессов СРО, на что указывает повышение концентрации конечного продукта этого процесса – малонового диальдегида и значительное снижение активности ферментов антиоксидантной защиты у животных контрольной группы. Как видно из приведенной таблицы, курсовое введение испытуемых фитоэкстрактов ограничивает активацию СРО, достоверно снижая концентрацию МДА: экстракт *F. uniflorum* корней – на 30%, экстракт *F. uniflorum* травы – на 45%. Также отмечено повышение мощности антиоксидантной системы: достоверное повышение концентрации восстановленного глутатиона и активности супероксиддисмутазы и каталазы. При этом несколько более выраженное антиоксидантное действие проявлял экстракт *F. uniflorum* травы. В целом антиоксидантная активность экстрактов *F. uniflorum* превосходила таковую у препарата сравнения – экстракта *R. carthamoides*.

3.1.2. Влияние на устойчивость к психоэмоциональному стрессу

Эксперименты проведены на крысах линии Wistar обоего пола массой 180–200 г. Модель психо-эмоционального стресса воспроизводили методом иммобилизации животных на ограниченном пространстве в опасной для них среде: белых крыс, заключенных в металлических пеналах, погружали в воду (25°С) по мечевидный отросток на 4 часа (Overmier J., 1986). Крысам опытной группы 1 внутрижелудочно вводили экстракт *F. uniflorum* корней в дозе 100 мг/кг; опытной группе 2 – экстракт *F. uniflorum* травы в дозе 100 мг/кг; опытной группе 3 – деалкоголизированный экстракт *R. carthamoides* в дозе 5,0 мл/кг. Испытуемые средства вводили в виде водных растворов внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг профилактически в течение 7 дней до стрессорного воздействия, 1 раз в день за 30 минут до кормления. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. На 7 сутки эксперимента животных контрольной и опытных групп подвергали психоэмоциональному стрессу на 4 часа, затем выводили из эксперимента путем мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом и оценивали антистрессорную активность испытуемых фитосредств. Для этого определяли показатели «триады Селье» (гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса и селезенки, количество повреждений в слизисто оболочке желудка) вышеописанными методами. В сыворотке крови определяли интенсивность процессов свободнорадикального окисления и активность эндогенной АОС по содержанию малонового диальдегида, активности каталазы и супероксиддисмутазы в сыворотке крови, содержанию восстановленного глутатиона в цельной крови вышеописанными методами. Также в плазме крови определяли концентрацию стрессорных гормонов: адренкортикотропного гормона (АКТГ), адреналина, норадреналина и дофамина с помощью фотометра «STAT FAX–2100» (США) с использованием иммуноферментного набора «Tri Cat ELISA»; в сыворотке крови – концентрацию кортикостерона и альдостерона методом твердофазного им-

муноферментного анализа с использованием анализатора “DSX” (США). Полученные данные представлены в таблицах 3.2.1 – 3.2.5.

Установлено, что курсовое профилактическое введение животным экстрактов *F. uniflorum* на фоне 4-часового эмоционального стресса оказывало выраженное антистрессорное действие, о чем свидетельствует достоверное уменьшение выраженности признаков «триады Селье» (табл. 3.1.2.1 – 3.1.2.2).

Таблица 3.1.2.1 - Влияние экстрактов *F. uniflorum* на степень гипертрофии надпочечников и инволюцию иммунокомпетентных органов белых крыс на фоне эмоционального стресса

Группы	Относительная масса органов (мг/100 г)		
	надпочечники	тимус	селезенка
Интактная, n=8	16,0±1,08	57,3±2,23	458,0 ±14,5
Контрольная (стресс+H ₂ O) n=8	25,0±2,51	33,5±3,16	359,2±20,5
Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни) n=8	18,3±1,34*	45,4±3,47*	408,5±23,4
Опытная 2 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава) n=8	20,2±1,95*	47,6±4,03*	425,3±16,8*
Опытная 3 (стресс+ <i>R. carthamoides</i>) n=8	16,3±1,62*	49,5±2,53*	430±26,2*

Таблица 3.1.2.2 - Влияние экстракта *F. uniflorum* на количество повреждений в слизистой оболочке желудка белых крыс на фоне эмоционального стресса

Показатели	Группы			
	Контрольная (стресс+ H ₂ O) n=8	Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни) n=8	Опытная 2 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава) n=8	Опытная 3 (стресс+ <i>R. carthamoides</i>) n=8
1	2	3	4	5
Кровоизлияния, %	100	100	100	100

Продолжение таблицы 3.1.2.2.				
1	2	3	4	5
Среднее число кровоизлияний на 1 крысу	6	2,8	3,2	4,3
ИП для кровоизлияний	6	2,8	3,2	4,3
Эрозии, %	100	50	37	50
Среднее число эрозий на 1 крысу	3	1,3	1,5	1,5
ИП для эрозий	3	0,65	0,55	0,75
Язвы полосовидные, %	80	0	12,5	12,5
Среднее число язв на 1 крысу	1	0	0,12	0,12
ИП для язв	1,25	0	0,01	0,01

Как следует из представленных таблиц, 18-часовой эмоциональный стресс приводит к развитию «триады Селье»: гипертрофии надпочечников, инволюции иммунных органов и развитию грубых дефектов в слизистой оболочке желудка в виде эрозий и полосовидных язв. При курсовом введении экстрактов *F. uniflorum* отмечались менее выраженные признаки стресс-реакции. Так, гипертрофия надпочечников у крыс, получавших экстракты *F. uniflorum* корней и травы, была меньше соответственно на 27 и 20%, чем в контроле; масса тимуса на 35 и 42% и селезенки – на 14 и 18% соответственно больше, чем у крыс контрольной группы (табл. 3.2.1). Наряду с этим, испытываемые средства оказывали гастропротективное действие, уменьшая выраженность язвенных повреждений слизистой оболочки животных (табл. 3.2.2). Точечные кровоизлияния наблюдались во всех группах животных, вместе с этим индекс Паула у крыс, получавших экстракты *F. uniflorum*, был меньше, чем у крыс контрольной группы и получавших препарат сравнения. Эрозии у крыс, получавших испытываемые экстракты, встречались в меньшем

количестве, чем в контроле, соответственно индекс Паулса у этих животных был значительно ниже. Полосовидные язвы в контрольной группе отмечались у 80% животных. В группе крыс, получавших экстракт *F. uniflorum* корней полосовидных язв не было отмечено; у крыс, получавших экстракты *F. uniflorum* и *R. carthamoides* - у 1 крысы из 8 в группе. В целом по показателям триады Селье, эффективность экстрактов *F. uniflorum* была сопоставима с таковой у препарата сравнения – экстракта *R. carthamoides*, а по ряду параметров даже превосходила таковую.

Установлено, что стресс-протективная активность экстрактов *F. uniflorum* обусловлена ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем: симпато-адреналовой (табл. 3.1.2.3) и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой (табл. 3.1.2.4).

Таблица 3.1.2.3 - Влияние экстрактов *F. uniflorum* на уровень катехоламинов в плазме крови крыс при эмоциональном стрессе

Группы	Показатели		
	Адреналин, нмоль/л	Норадреналин, нмоль/л	Дофамин, нмоль/л
Интактная, n=8	8,5±0,59	64,1±0,27	37,6±0,45
Контрольная (стресс+H ₂ O) n=8	37,8±0,35	120,6±4,71	58,4±0,45
Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни) n=8	29,3±0,85*	96,3±4,21*	50,7±2,06
Опытная 2 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава) n=8	26,5±1,24*	87,7±5,35*	48,3±1,28*
Опытная 3 (стресс+ <i>R. carthamoides</i>) n=8	31,6±0,51*	111,3±3,77	52,3±0,33

Таблица 3.1.2.4 – Влияние экстрактов *F. uniflorum* на содержание гормонов гипофиза и надпочечников в крови белых крыс при эмоциональном стрессе

Группы	Показатели		
	АКТГ, пг/мл	Кортикостерон, нмоль/л	Альдостерон, пг/мл
Интактная, n=8	15,8±1,69	44,3±3,74	271,8±10,45
Контрольная (стресс+H ₂ O) n=8	51,0±4,27	65,7±3,80	296,1±11,74
Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни) n=8	35,7±2,06*	51,6±1,83*	263,0±15,8
Опытная 2 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава) n=8	31,2±0,86*	50,5±2,45*	226,0±12,4*
Опытная 3 (стресс+ <i>R. carthamoides</i>) n=8	42,6±2,10*	54,7±4,38	257,3±16,62

Как следует из данных, представленных в таблице 3.1.2.3, курсовое введение экстрактов *F. uniflorum* сопровождается снижением активности пускового звена стресс-реакции – симпато-адреналовой системы, о чем свидетельствует снижение концентрации катехоламинов в крови животных опытных групп. Так, на фоне введения экстракта *F. uniflorum* корней и травы концентрация адреналина снижается соответственно на 23 и 30%; содержание норадреналина – на 20 и 25%, а дофамина – на 13 и 18% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Наряду с этим, на фоне введения испытуемых фитосредств отмечено снижение активности второго звена стресс-реакции – гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы, на что указывает снижение уровня гормонов этой системы (табл. 3.1.2.4). Так, у крыс, получавших экстракты *F. uniflorum* корней и травы, концентрация адреноректорикотропного гормона в крови уменьшилась соответственно на 30 и 40%; кортикостерона – на 22 и 24%; альдостерона – на 12 и 24% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Показано, что стресс-протективная активность экстракта *F. uniflorum* травы несколько превосходила таковую у экстракта *F. uniflorum* корней, а также активность препарата сравнения экстракта левзеи сафлоровидной.

Таблица 3.1.2.5 – Влияние экстрактов *F. uniflorum* на показатели процессов свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной системы белых крыс на фоне 4-часового эмоционального стресса

Группы	Показатели			
	МДА, нмоль/мл	ВГ, ммоль/л	Каталаза, мкат/л	СОД, ед. активности
Интактная, n=8	12,2 ± 1,03	3,1 ± 0,16	8,3 ± 0,61	15,6 ± 1,08
Контрольная (стресс+H ₂ O) n=8	24,7 ± 1,41	0,8 ± 0,12	5,9 ± 0,48	6,2 ± 0,57
Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> корни) n=8	15,3 ± 1,04*	2,1 ± 0,04*	7,0 ± 0,22*	11,3 ± 0,94*
Опытная 2 (стресс+ <i>F. uniflorum</i> трава) n=8	14,8 ± 1,05*	2,3 ± 0,17*	7,3 ± 0,46*	9,74 ± 0,14*
Опытная 3 (стресс+ <i>R. carthamoides</i>) n=8	14,3 ± 0,92*	1,5 ± 0,09*	6,7 ± 0,72*	10,9 ± 0,86*

Как следует из данных, представленных в таблице 3.1.2.5, курсовое введение экстрактов *F. uniflorum* сопровождается снижением индукции процессов свободнорадикального окисления (СРО), являющихся универсальным ведущим молекулярно-клеточным механизмом повреждения клеточных мембран при стрессорных повреждениях. В частности, на это указывает снижение концентрации МДА в крови крыс и опытных групп 1 и 2 в среднем на 30% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Установлено, что ограничение процессов СРО обусловлено повышением активности эндогенной антиоксидантной системы организма (АОС), о чем свидетельствует повышение концентрации восстановленного глутатиона в 2,6 раза – при введении экстракта *F. uniflorum* корней и в 3 раза – при введении экстракта *F. uniflorum* травы. Также на фоне введения испытуемых экстрактов повышается активность ферментов антиоксидантной защиты каталазы и СОД: при введении экстракта *F. uniflorum* корней соответственно на 18 и 82%, а при введении экстракта *F. uniflorum* травы – на 24 и 57% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. При этом антиоксидантная активность испытуемых средств была аналогичной таковой у препарата сравнения

– экстракт левзеи сафлоровидной.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что экстракты *F. uniflorum* корней и травы в дозах 100 мг/кг обладают выраженными стресс-протективными свойствами при иммобилизационном и эмоциональном стрессе, препятствуя развитию признаков «триады Селье»: гипертрофии надпочечников, инволюции иммунокомпетентных органов и появлению деструкций в слизистой оболочке желудка крыс опытной группы. Установлено, что уменьшение выраженности признаков стресс-реакции обусловлено снижением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем: симпатoadреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой, а также снижением интенсивности процессов свободнорадикального окисления и повышение активности эндогенной антиоксидантной системы. При этом стресс-протективная активность экстракта левзеи одноцветкой превосходила такую у препарата сравнения – экстракта *R. carthamoides*.

3.2. Исследование актопротекторной активности экстрактов

F. uniflorum

Исследования проведены на белых крысах линии Wistar обоего пола массой 180 – 200 г. Общую физическую выносливость определяли общепринятым методом плавания животных в бассейне с грузом, составляющим 7% от массы тела до полного утомления, критерием которого служило первое погружение животного под воду в течение 10 секунд. Животным опытных групп внутрижелудочно вводили экстракт *F. uniflorum* корней в дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг профилактически в течение 14 дней до эксперимента 1 раз в день за 30 минут до кормления. Животные контрольной группы получали эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. В качестве препарата сравнения использовали dealкоголизированный экстракт *R. carthamoides* дозе 5 мл/кг. Для оценки влияния испытуемого экстракта на общую физическую выносливость определяли время плавания животных до полного утомления. После этого крыс декапитировали под легким

эфирным наркозом и определяли в гомогенате скелетной мышцы содержание АТФ (Алейникова, Рубцова, 1988), молочной (МК) и пировиноградной кислот (ПВК) (Колб и соавт., 1980); в гомогенате печени определяли содержание гликогена (Seifter, 1950), вВ сыворотке крови – концентрацию глюкозы, общего белка, холестерина, липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК) на анализаторе «Sapphire 400» (Япония). Также оценивали интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СРО) и состояние антиоксидантной системы организма по содержанию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (Темирбулатов, Селезнев, 1981), активности каталазы (Корюк и соавт., 1988) и содержанию восстановленного глутатиона (Андерсон и соавт., 1977). Полученные данные представлены в таблицах 3.2.1 – 3.2.2.

Таблица 3.2.1- Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на общую физическую выносливость, показатели обмена веществ и энергетического статуса организма белых крыс

Показатели	Группы животных			
	Интактная n=8	Контрольная (ИФН+H ₂ O) n=10	Опытная 1 (ИФН+ <i>F. uniflorum</i>) n=10	Опытная 2 (ИФН+ <i>R. carthamoides</i>) n=10
1	2	3	4	5
Плавание, мин	-	3,6±0,54	6,4±0,25*	6,6±0,39*
АТФ в скелетной мышце, мкмоль/г	1,7±0,06	0,5±0,03	1,0±0,02*	0,9±0,07*
Глюкоза, ммоль/л	10,5±0,49	7,3±0,30	8,7±0,42*	10,9±0,53*
Гликоген в печени, г%	45,7±2,24	12,6±1,08	28,5±1,06*	21,8±1,07*
МК, ммоль/л	1,1±0,04	2,0±0,08	1,5±0,04*	1,4±0,07*
ПВК, ммоль/л	0,06±0,005	0,18±0,007	0,15±0,001	0,14±0,009
ЛДГ, ед/л	2018±165,4	3433±155,8	2542±125,3*	2298±124,6*

Продолжение таблицы 3.2.1.				
1	2	3	4	5
КФК, ед/л	6912±212,1	12379±321,3	9855±267,3*	11279±356,5
Общий белок, г/л	79,8±2,56	72,2±1,29	80,2±5,06	81,0±2,34*
Холестерин, ммоль/л	2,0±0,04	1,9±0,09	1,8±0,05	1,7 ±0,05*
ЛПВП, ммоль/л	0,32±0,015	0,29±0,031	0,30±0,041	0,35±0,023

Как следует из данных, представленных в таблице 3.2.1, курсовое введение экстракта *F. uniflorum* корней сопровождается повышением общей физической выносливости белых крыс, о чем свидетельствует увеличение продолжительности плавания на 77% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Установлено, что повышение работоспособности под влиянием испытуемого средства обусловлено метаболической перестройкой, в частности улучшением энергообеспечения работающих тканей, о чем свидетельствует повышение содержания АТФ в скелетных мышцах более, чем в 2 раза по сравнению с данными крыс контрольной группы. Также у крыс, под влиянием испытуемого экстракта увеличивались углеводные запасы: концентрация гликогена в печени крыс этой группы была более чем в 2 раза выше, чем в контроле, концентрация глюкозы в крови повышалась на 19% по сравнению с аналогичными данными у крыс контрольной группы. Отмечено уменьшение выраженности метаболического ацидоза: концентрация лактата и пирувата в гомогенате скелетной мышцы снижалась соответственно на 25 и 17% ; также наблюдалось снижение активности лактатдегидрогеназы и креатинфосфокиназы соответственно на 26 и 20% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. При этом испытуемое средство не оказывало влияния на концентрацию общего белка, холестерина и ЛПВП в крови. Эффективность экстракта *F. uniflorum* корней была сопоставима с таковой у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной.

Таблица 3.2.2 - Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на интенсивность процессов свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной системы организма белых крыс на фоне интенсивной физической нагрузки

Группы	Показатели		
	МДА, нмоль/мл	ВГ, ммоль/л	Каталаза, мкат/л
Интактная, n=8	2,3±0,38	6,4±0,32	12,5±0,89
Контрольная (стресс+H ₂ O) n=10	5,8±0,61	3,5±0,21	8,3±0,67
Опытная 1 (стресс+ <i>F. uniflorum</i>) n=10	3,7±0,32*	5,3±0,42*	10,7±0,73*
Опытная 2 (стресс+ <i>R. carthamoides</i>) n=10	4,2±0,36*	5,7±0,37*	11,2±0,48*

Как следует из таблицы 3.2.2, на фоне курсового профилактического введения экстракта *F. uniflorum* корней отмечается снижение интенсивности свободнорадикального окисления биомакромолекул и повышение активности эндогенной антиоксидантной системы организма, о чем свидетельствует снижение концентрации МДА в сыворотке крови на 37%, повышение концентрации восстановленного глутатиона на 50% и повышение активности каталазы на 29% по сравнению с аналогичными показателями крыс контрольной группы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что профилактическое курсовое применение экстракта *F. uniflorum* корней в дозе 100 мг/кг на фоне интенсивных физических нагрузок оказывает выраженное актопротекторное действие, повышая общую физическую выносливость животных. Установлено, что стимуляция физической работоспособности белых крыс под влиянием испытуемого средства связана с активацией энергетического обмена, усилением ресинтеза АТФ за счет активации процесса окислительно-го фосфорилирования и снижения доли анаэробного гликолиза. Вместе с этим, отмечалось увеличение концентрации энергетических субстратов в клетках, что также пролонгировало возможность выполнения физической работы. Показано, что молекулярные механизмы актопротекторного действия

испытуемого экстракта связаны с ингибированием процессов свободнорадикального окисления и повышением активности эндогенной антиоксидантной системы.

3.3. Влияние экстрактов *F. uniflorum* на устойчивость животных к кислороддефицитным состояниям различного генеза

Исследования выполнены на белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180–200 г. Антигипоксическое действие экстрактов исследовали на трех моделях: гемической, гистотоксической гипоксии и нормобарическая гипоксии с гиперкапнией.

Модель острой гемической гипоксии воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения нитрита натрия в дозе DL₁₀₀ (200 мг/кг) (Лукьянова, 1989); гистотоксической гипоксии – однократным введением нитропрусида натрия в дозе DL₁₀₀ (20 мг/кг); нормобарической гипоксии с гиперкапнией – помещением крыс в герметичные емкости объемом 1 л (Воронина и соавт. 2012).

Водный раствор экстрактов *F. uniflorum* вводили животным интрагастрально в дозах 50, 100 и 200 мг/кг за 30 мин до кормления в течение 7 дней до проведения экспериментов. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизированный экстракт левзеи сафлоровидной (*R. carthamoides*) в дозе 5,0 мл/кг. Крысы контрольной группы получали дистиллированную воду в эквивалентном объеме по аналогичной схеме. Полученные данные приведены в таблице 3.3.1.

Таблица 3.3.1 – Влияние экстрактов *F. uniflorum* на продолжительность жизни белых крыс кислороддефицитных состояниях

Группы животных	Дозы, мг/кг	Продолжительность жизни при гипоксии, мин		
		гиперкапническая	гемическая	гистотоксическая
Контрольная (H ₂ O), n=8	-	8,42 ± 0,62	10,2 ± 1,14	110,5 ± 9,6
Экстракт <i>F. uniflorum</i> корней, n=8	50	10,32 ± 0,48*	11,3 ± 0,85	112,0 ± 8,38
Экстракт <i>F. uniflorum</i> корней, n=8	100	13,5 ± 1,83*	14,9 ± 1,06*	136,7 ± 12,3
Экстракт <i>F. uniflorum</i> корней, n=8	200	16,40 ± 2,36*	16,8 ± 1,56*	138,2 ± 12,0*
Экстракт <i>F. uniflorum</i> травы, n=8	50	10,85 ± 0,12*	12,3 ± 0,76*	120,0 ± 7,84
Экстракт <i>F. uniflorum</i> травы, n=8	100	12,5 ± 0,83*	15,3 ± 0,78*	140,7 ± 8,05
Экстракт <i>F. uniflorum</i> травы, n=8	200	13,4 ± 1,25*	15,8 ± 1,07*	143,2 ± 9,35*
Экстракт <i>R. carthamoides</i> , n=8	5 мл/кг	11,6 ± 1,07*	15,3 ± 1,23*	140,0 ± 12,4*

Как следует из представленной таблицы экстракты *F. uniflorum* в дозах 50, 150 и 250 мг/кг оказывают выраженное антигипоксическое действие при гипоксических состояниях различного генеза. Так, курсовое введение животным экстракта *F. uniflorum* корней в дозах 50, 100 и 250 мг/кг увеличивало продолжительность жизни крыс при гипоксической гипоксии с гиперкапнией соответственно на 22, 60 и 95% по сравнению с данными животных в контрольной группе. В условиях гемической гипоксии данный экстракт не оказывал влияния, а при введении доз 150 и 250 мг/кг резервное

время жизни животных было выше, чем в контроле на 48 и 64% соответственно. При острой тканевой гипоксии введение животным экстракта *F. uniflorum* корней в дозах 150 и 259 мг/кг повышало среднюю продолжительность жизни животных в среднем на 25% по сравнению с данными крыс контрольной группы. При исследовании антигипоксической активности экстракта *F. uniflorum* травы установлено, что его курсовое введение в дозах 50, 100 и 200 мг/кг при гиперкапнической гипоксии повышало продолжительность жизни животных опытных групп соответственно на 29, 48 и 59%; при введении на фоне гемической гипоксии – на 20, 50 и 54% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. При гистотоксической гипоксии введение указанного экстракта в дозе 50 мг/кг влияния на время жизни не оказывало, тогда как при введении в дозах 100 и 200 мг/кг резервное время жизни крыс увеличивалось соответственно на 27 и 29% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Курсовое введение животным препарата сравнения экстракта левзеи сафлоровидной в дозе 5 мл/кг увеличивало продолжительность жизни крыс при острой гиперкапнической гипоксии – на 38%, при гемической – на 50% и при гистотоксической гипоксии – на 27% по сравнению с данными животных контрольной группы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что экстракты *F. uniflorum* повышают устойчивость белых крыс к кислороддефицитным состояниям различного генеза. Наиболее выраженное антигипоксическое действие испытываемые фитоэкстракты проявляют в дозах 100 и 200 мг/кг при гемической и гиперкапнической гипоксии. Антигипоксическое действие экстрактов *F. uniflorum* превосходит таковое у препарата сравнения экстракт *R. carthamoides*.

3.4. Исследование анаболической активности экстракта

F. uniflorum

Исследование анаболической активности производили на 24 неполовозрелых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 70 – 80 г. Животные были разделены на 3 группы. Опытная группа 1 получала ежедневно за 30 минут до кормления водный раствор экстракта *F. uniflorum* корней в дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг внутривентриально в течение 21 дня. Опытная группа 2 получала деалкоголизированный раствор экстракта левзеи сафлоровидной в дозе 5 мл/кг, а контрольная группа – дистиллированную воду в аналогичном объеме. После 21 дня эксперимента производили контрольное взвешивание, определяя абсолютный прирост массы тела. Животные выводились из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом, после чего внутренние органы (печень, сердечная мышца, четырехглавая мышца бедра) взвешивали с последующей заморозкой в жидком азоте. В гомогенате печени определяли содержание гликогена по методу по методу S. Seifter (1950), в гомогенате скелетной мышцы – содержание РНК и ДНК по методу Блобеля, Поттера в модификации М.Г. Трудолюбовой (Трудолюбова, 1977) Содержание общего белка в гомогенате скелетной мышцы определяли по методу Бредфорда (Bradford, 1976). В сыворотке крови животных определяли концентрацию глюкозы, общего белка, триацилглицеридов (ТАГ), холестерина, липопротеинов высокой (ЛПВП) и низкой (ЛПНП) плотности, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК). Исследование биохимических показателей проводили с использованием анализатора «SAPPHIRE 400» (Япония). Полученные данные представлены в таблицах 3.4.1 – 3.4.2.

Таблица 3.4.1 - Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на прирост массы тела и внутренних органов неполовозрелых белых крыс

Показатели		Группы животных		
		Контрольная (H ₂ O) n=8	Опытная 1 (<i>F. uniflorum</i>) n=8	Опытная 2 (левзея) n=8
Прирост массы тела, г		39,5±1,64	45,8±2,33*	41,6±2,19
Масса органов, г	четырёхглавая мышца	0,60±0,028	1,0±0,087*	0,68±0,043
	миокард	0,33±0,020	0,53±0,011*	0,39±0,026
печень		3,3±0,14	4,7±0,28*	3,2±0,20

Примечание: масса органов дана в пересчете на 100 г животного.

Установлено, что 21-дневное введение экстракта корневищ *F. uniflorum* в дозе 100 мг/кг неполовозрелым крысам оказывает анаболическое действие, повышая прирост массы тела животных на 16% (табл. 3.4.1). При этом, как следует из данных представленной таблицы, прирост массы происходил в результате преимущественного прироста массы скелетных мышц, о чем свидетельствует увеличение массы четырехглавой мышцы бедра крыс опытной группы на 66% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Наряду с этим, у крыс, получавших испытуемый экстракт отмечено увеличение масс миокарда и печени соответственно на 60 и 42% по сравнению с аналогичными показателями у крыс контрольной группы.

Показано, что под влиянием курсового введения экстракта *F. Uniflorum* у неполовозрелых животных происходит метаболическая перестройка, заключающаяся в активации анаболических процессов (табл. 3.4.2).

Таблица 3.4.2 - Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на биохимические показатели неполовозрелых белых крыс

Показатели	Группы животных		
	Контрольная (H ₂ O) n=8	Опытная 1 (<i>F. uniflorum</i>) n=8	Опытная 2 (левзея) n=8
Белок в гомогенате скелетной мышцы, мг/г	60,4±0,50	82,1±0,43*	88,3±0,96*
ДНК в гомогенате скелетной мышцы, мг/г	0,92±0,085	2,6±0,71*	1,10±0,080
РНК в гомогенате скелетной мышцы, мг/г	4,1±0,12	5,7±0,82*	5,1±0,13*
Гликоген печени, мг/г	53,2±1,20	63,0±0,35*	59,5±1,27*
Глюкоза, ммоль/л	4,7±0,32	4,8±0,52	5,94±0,21*
Холестерин, ммоль/л	2,1±0,09	1,8±0,03*	1,9±0,08
ЛПНП, ммоль/л	0,69±0,024	0,71±0,042	0,74±0,049
ЛПВП, ммоль/л	1,1±0,06	0,85±0,039*	0,92±0,058
ТАГ, ммоль/л	0,61±0,047	0,63±0,041	0,65±0,052
СТГ, нг/мл	0,82±0,065	0,86±0,037	0,89±0,062

Как следует из данных указанной таблицы, под влиянием экстракта *F. uniflorum* активизируется синтез белка в скелетных мышцах, на что указывает повышение его концентрации в гомогенате четырехглавой мышцы на 36% по сравнению с данными крыс контрольной группы. При этом показано, что повышение концентрации белка в скелетных мышцах коррелирует с увеличением содержания нуклеиновых кислот: концентрация ДНК в гомогенате четырехглавой мышцы была почти в три раза выше, чем в контроле, а уровень РНК – на 40% больше, чем у крыс контрольной группы. О стимуляции синтетических процессов под влиянием испытуемого средства свидетельствует

также активация синтеза гликогена в печени, концентрация кодостоверно того увеличивалась на 18% по сравнению с таковой в контроле. Также отмечено, что у неполовозрелых крыс, получавших экстракт *F. Uniflorum*, снижалось содержание холестерина и ЛПВП в сыворотке крови соответственно на 18 и 23% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. По таким показателям как концентрация глюкозы, ЛПНП в сыворотке крови достоверных отличий с контролем выявлено не было. При этом установлено, что на содержание соматотропного гормона в крови испытуемое средство также не оказывало влияния. Показано, что аналогичная активность экстракта *F. uniflorum* существенно превосходила таковую у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной.

3.5. Исследование мембраностабилизирующей активности экстрактов *F. uniflorum*

Мембраностабилизирующую активность экстрактов, полученных из наземной и подземной частей *F. uniflorum* оценивали *in vitro* с использованием метода перекисного и осмотического гемолиза 1%-ной суспензии эритроцитов донорской крови (Ковалев и соавт., 1986). Перекисный гемолиз эритроцитов вызывали реактивом Фентона, компоненты которого были использованы в минимальных концентрациях, вызывающих 100% лизис эритроцитов: $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01 мг/мл (в пересчете на 100% раствор перекиси водорода). Для получения осмотического гемолиза к суспензии эритроцитов добавляли равный объем дистиллированной воды. Водные растворы экстракта *F. uniflorum* в инкубационную среду вносили в концентрациях: 10,0; 10,0; 5,0; 0,1; 0,001 мг/мл. Степень гемолиза определяли фотометрически при длине волны 420 нм. Мембраностабилизирующее действие оценивали в процентах по отношению к показателям в контроле (без добавления экстракта в инкубационную среду).

В результате проведенных исследований установлено, что экстракты, полученные из корневищ и надземной части *F. uniflorum* обладают выраженной мембраностабилизирующей активностью (табл. 6.1.1.).

Таблица 6.1.1 – Влияние экстрактов *F. uniflorum* корневищ и травы на гемолиз эритроцитов донорской крови

Условия опыта	Доза, мг/мл	Гемолиз эритроцитов	
		перекисный, %	осмотический, %
Контроль (гемолиз)	-	100	100
Экстракт <i>F. uniflorum</i> корней	50,0	17,3±0,23*	47,2±1,43*
	10,0	28,1±0,15*	58,9±0,78*
	5,0	36,9±0,41*	81,1±0,54*
	0,1	40,7±0,56*	88,6±0,14*
	0,01	52,9±0,37*	96,2±0,51
Экстракт <i>F. uniflorum</i> травы	50	8,1±0,24*	56,3±0,45*
	10	11,7±0,17*	58,8±0,84*
	5	21,8±0,51*	62,6±0,55*
	0,1	37,2±0,71*	75,2±0,85*

Как следует из данных, представленных в таблице 6.1.1, все исследованные дозы экстрактов *F. uniflorum* способствуют снижению выраженности перекисного и осмотического гемолиза эритроцитов, что свидетельствует о наличии мембраностабилизирующей активности. Наиболее выраженное мембраностабилизирующее действие исследованные экстракты проявляют по отношению к перекисному гемолизу в концентрации 50 мг/мл. Так, при внесении экстрактов *F. uniflorum* корней и травы в указанной дозе степень перекисного гемолиза уменьшалась соответственно на 83 и 92% по сравнению с аналогичными показателями контрольных проб. Высокая мембраностабилизирующая активность была выявлена и при использовании испытуемых фитозэкстрактов в концентрации 10 мг/мл: степень перекисного гемолиза сни-

жалась соответственно на 72 и 88% по отношению к контролю. При дальнейшем уменьшении концентрации экстрактов *F. uniflorum* их мембраностабилизирующая активность снижалась, при этом даже при внесении экстрактов в минимальных дозах (0,1 и 0,01 мг/мл) было отмечено 50% уменьшение перекисного гемолиза. При исследовании влияния на осмотический гемолиз, мембраностабилизирующее действие было менее выраженным. При внесении в инкубационную среду экстрактов *F. uniflorum* корней в концентрациях 50,0; 10,0; 5,0 и 0,1 мг/мл степень осмотического гемолиза снижалась соответственно на 53, 40,19 и 11% по сравнению с аналогичными показателями контрольных проб. Экстракт *F. uniflorum* травы оказывал аналогичное мембраностабилизирующее действие.

3.6. Исследование антиоксидантной активности экстракта корневищ *F. uniflorum*

3.6.1. Антирадикальная активность по отношению к супероксидным анион - радикалам

Связывание супероксидных радикалов (ССР) определяли по методу Chen с соавт. (2003), в котором продукция $O_2^{\cdot-}$ осуществлялась в неэнзиматической системе феназинметасульфат – НАДФ с последующей спектрофотометрической регистрацией количества окисленного тетразолия нитросинего. Экстракт корневищ *F. uniflorum* в инкубационную среду добавляли в концентрациях 5,0; 25,0; 100,0 и 500,0 мкг/мл. В качестве препаратов сравнения использовали классические антиоксиданты: рутин, кверцетин (Sigma) и кофейную кислоту (Sigma). Величиной антиоксидантной активности считали концентрацию исследуемого средства, необходимую для ингибирования (связывания) 50% реактивных частиц (IC_{50}). Полученные данные приведены в таблице 3.6.1.1.

Таблица 3.6.1.1 - Влияние экстракта *F. uniflorum* на уровень связывания супероксидных радикалов

Объект	Концентрация, мкг/мл антирадикальная активность, %				IC ₅₀ , мкг/мл
	2,34	9,37	37,5	150	
Рутин	61,49	66,53	71,98	82,66	1,9±0,1
Кверцетин	44,76	50,20	87,50	90,53	32,0±1,1
Кофейная кислота	5,0	25,0	100	500	6,0±0,2
	44,41	59,90	78,31	95,30	
Экстракт <i>F. uniflorum</i>	5,0	25,0	100	500	58,5±4,2
	27,22	31,05	70,15	98,11	

Как следует из данных, представленных в указанной таблице, экстракт сухой *F. uniflorum* в указанных дозах обладает умеренным ингибирующим действием на активные формы кислорода, в условиях *in vitro*, в т.ч. на супероксидный анион-радикал. Уровень половинного ингибирования (IC₅₀) указанных радикалов для испытуемого экстракта составил 58,5 мкг/мл. Антирадикальная активность экстракта была сопоставима с таковой у кверцетина, но уступала таковой у рутина и кофейной кислоты.

3.6.2. Антирадикальная активность в отношении

NO - радикалов

Связывание NO (CNO) определяли с использованием метода Govindarajan с соавт. (2003). Метод заключается в связывании веществом NO нитропруссидом натрия с последующей спектрофотометрической регистрацией остаточного содержания NO реактивом Грисса. Экстракт *F. uniflorum* в инкубационную среду добавляли в концентрациях 150, 300, 750, 1500, 3000 мкг/мл. В качестве препаратов сравнения использовали рутин, кверцетин (Sigma) и кофейную кислоту (Sigma). Полученные результаты подвергали логарифмированию по концентрационной шкале с последующим регрессионным анализом и определением величины 50% связывания радикалов NO (IC₅₀).

Таблица 3.6.2.1 - Влияние экстракта *F. uniflorum* на уровень связывания NO-радикалов

Объект	Концентрация, мкг/мл антирадикальная активность, %					IC ₅₀ мкг/мл
	0,58	2,34	9,37	37,5	150	
Рутин	54,44	61,49	66,53	71,98	82,66	18,2±0,5
Кверцетин	34,07	44,76	50,20	87,50	90,53	150,0±4,1
Кофейная кислота	100	250	350	525	700	507,3±20,2
	17,25	33,11	40,18	51,31	65,05	
Экстракт <i>F. uniflorum</i>	150	300	750	1500	3000	362,3±27,1
	38,51	49,12	57,34	71,25	78,10	

Показано, что экстракт сухой *F. uniflorum* обладает выраженной NO связывающей активностью: уровень половинного ингибирования (IC₅₀) составил 362,3 мкг/мл. При этом, NO-антирадикальная активность исследуемого фитосредства превосходит таковую у препарата сравнения - кофейной кислоты, для которой IC₅₀ составил 507,3 мкг/мл и уступает антирадикальной активности рутина и кверцетина.

3.6.3. Антирадикальная активность в отношении связывания

DPPH - радикала

Использование 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) радикала при определении антирадикальной активности является бесубстратным методом. В присутствии донора водорода 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил восстанавливается с утратой специфической окраски (Seyoum et al, 2006). Изучение антирадикальной активности экстракта *F. uniflorum* в DPPH- тесте проводили

спектрофотометрическим методом со спиртовым раствором радикала DPPH при длине волны 520 нм. Испытуемый экстракт в инкубационную среду вносили в концентрациях 10, 30, 50, 80, 100 и 110 мкг/мл. В качестве препарата сравнения использовали ионол (Sigma). Измерения были проведены через 30 мин после добавления испытуемых средств, после чего были построены кривые зависимости % ингибирования радикалов DPPH от концентрации исследуемых средств. Показателем, характеризующим антирадикальную активность, является IC₅₀ – концентрация исследуемого фитосредства, при которой наблюдается 50 %-ное ингибирование DPPH*. Полученные данные представлены в таблице 3.6.3.1.

Таблица 3.6.3.1 -Антирадикальная активность экстракта *F. uniflorum* в отношении связывания DPPH-радикала

Объект	Концентрация, мкг/мл						IC ₅₀ мкг/мл
	антирадикальная активность, %						
	5,0	12,0	33,0	66,0	100		45,1±1,5
Ионол	2,05	21,02	35,51	74,54	75,53		
Экстракт <i>F. uniflorum</i>	10,0	30,0	50,0	80,0	100	110	42,8±2,7
	20,34	35,51	63,18	75,62	78,15	83,44	

Как следует из данных, представленных в таблице 3.6.3.1, экстракт *F. uniflorum* проявляет выраженную антирадикальную активность в отношении связывания DPPH-радикала. Уровень половинного связывания (IC₅₀) составил 40,8 мкг/мл. При этом антирадикальная активность испытуемого экстракта была сопоставима с таковой у препарата сравнения – ионола.

3.6.4. Определение Fe²⁺-хелатирующей активности

Исследование проведено с использованием метода, основанного на способности исследуемого вещества связывать ионы железа (Fe²⁺) (Оленников и соавт., 2008). Модельная система состояла из 0,2 мл 25 мМ раствора офенантролина; 25 мкл 12,3 мМ раствора Fe₂SO₄; 2,6 мл 96% этанола. Экс-

тракт *F. uniflorum* в инкубационную среду вносили в концентрациях 0,14; 0,71; 3,55 и 16,0 мкг/мл. Через 10 минут спектрофотометрически оценивали концентрацию Fe^{2+} при длине волны 505 нм. Fe^{2+} -хелатирующую активность испытуемых средства выражали в % по отношению к контролю. Полученные данные приведены в таблице 3.6.4.1.

Таблица 3.6.4.1 - Fe^{2+} - хелатирующая активность экстракта *F. uniflorum*

Объект	Концентрация, мг/мл				IC ₅₀ мг/мл
	Fe ²⁺ -хелатирующая активность, %				
	0,044	0,22	1,11	4,44	
Аскорбиновая кислота	41,02	67,21	92,34	100	0,15±0,010
Кофейная кислота	0,044	0,22	1,11	4,44	>5,0
	0	0	2,17	7,51	
Экстракт <i>F. uniflorum</i>	0,14	0,71	3,55	16,0	2,24±0,17
	17,24	28,14	67,11	86,32	

В результате проведенных исследований установлено, что экстракт *F. uniflorum* в указанных концентрациях проявляет умеренное хелатирующее действие в отношении ионов Fe^{2+} . Уровень половинного связывания составил 3,19 мг/мл, что несколько уступает активности препаратов сравнения аскорбиновой и кофейной кислотам.

3.6.5. Влияние на скорость процесса перекисного окисления липидов

Для оценки антиокислительной активности исследуемого фитосредства использована модельная система, представляющая собой суспензию желточных липопротеидов, полученную из куриного желтка и содержащую липопротеиновые комплексы, сходные с липидами крови (Клебанов, 1988). Процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) в пробах индуцировали добавлением раствора $FeSO_4 \times H_2O$. Экстракт *F. uniflorum* в инкубационную среду вносили в концентрациях 5., 100, 200, 400 и 800 мкг/мл. Величину антиокис-

лительной активности (АОА) выражали через концентрацию исследуемого фитосредства, при которой наблюдается 50 % ингибирование ПОЛ - IC₅₀ (мг/мл). В качестве препарата сравнения использован ионол (Sigma).

Таблица 3.6.5.1 - Антиокислительная активность экстракта *F. uniflorum* в условиях Fe²⁺ - инициированной окислительной модификации белков

Объект	Концентрация, мкг/мл					IC ₅₀ мкг/мл
	антиокислительная активность, %					
	3,0	6,0	10,0	20,0	50,0	7,98
Ионол	19,02	34,02	70,11	76,10	90,02	
Экстракт <i>F.</i> <i>uniflorum</i>	50,0	100,0	200,0	400,0	800,0	116,10
	25,04	49,23	55,12	77,63	100	

Как следует из данных, приведенных в таблице 6.3.5.1, внесение экстракта *F. uniflorum* в инкубационную среду способствует снижению интенсивности процесса ПОЛ, ингибируя OH*-опосредованную деградацию липопротеидов в модельной системе. IC₅₀ для исследуемого фитосредства составляет 116,1 мкг/мл, что указывает на умеренную антиокислительную активность экстракта *F. uniflorum* в данном тесте.

Таким образом, в результате проведенных исследований, установлено что экстракт корневищ *F. uniflorum* обладает потенциальными антиоксидантными свойствами, что обуславливает выявленное в предыдущих экспериментах стресс-протективное действие данного фитосредства. Действующими биологически активными веществами являются фитоэкдистероиды и флавоноиды, присутствующие в растении.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТОВ *FORNICIUM UNIFLORUM* L. НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

4.1. Влияние экстракта *F. uniflorum* на поведенческую активность крыс в тесте «открытое поле»

Эксперименты проведены на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180 – 200 г. Для оценки ориентировочных реакций и поведенческой активности крыс использовали тест «открытое поле» (Воронина и соавт., 2012 а). Животным опытных групп водный раствор *F. uniflorum* корней вводили внутривентрикулярно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг в объеме 10 мл/кг 1 раз в день в течение 7 дней до тестирования. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Тестирование проводили в утренние часы в течении 3 мин. Определяли горизонтальную активность (по количеству пересеченных периферических и центральных квадратов); вертикальную активность (по количеству подъемов на задние лапки); норковый рефлекс (по количеству заглядываний в норки), а также регистрировали количество актов дефекаций и груминга. Об общей двигательной активности судили по сумме горизонтальной, вертикальной двигательной активности и норковому рефлексу. Полученные данные представлены в таблице 4.1.1.

Таблица 4.1.1 - Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на поведенческую активность белых крыс в тесте «открытое поле»

Показатели	Группы животных			
	Контрольная (H ₂ O) n=12	Опытная 1 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 50 мг/кг) n=10	Опытная 2 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 100 мг/кг) n=10	Опытная 3 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 200 мг/кг) n=10
1	2	3	4	5
Горизонтальная активность	22,6±4,06	30,5±3,08	32,7±3,14*	33,4±2,67*

Продолжение таблицы 4.1.1				
1	2	3	4	5
Вертикальная активность	7,1±0,99	12,3±1,43*	13,0±1,25*	11,5±0,97*
Норковый рефлекс	1,6±0,59	2,1±0,12*	2,3±0,62*	1,7±0,25
Общая двигательная активность	31,3±5,46	44,9±4,05*	48,0±4,09*	46,6±5,82*
Грумминг	0,40±0,13	0,43±0,12	0,48±0,03*	0,54±0,12*
Дефекации	1,5±0,24	1,2±0,19	1,1±0,07	0,9±0,06*

Как следует из данных, представленных в указанной таблице, введение животным экстракта *F. uniflorum* сопровождается повышением ориентировочно-исследовательской активности и снижением уровня тревожности белых крыс в незнакомой обстановке. Так, на фоне введения испытуемого экстракта в дозах 50, 100 200 мг/кг горизонтальная активность животных повышалась соответственно на 35, 44 и 48%; вертикальная активность – на 73, 83 и 62%; норковый рефлекс – на 30 и 44% по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Соответственно у животных опытных групп наблюдалось повышение общей двигательной активности соответственно на 43, 53 и 48% по сравнению с контролем. При этом следует отметить, что повышение двигательной активности происходило преимущественно за счет вертикального компонента, что свидетельствует о превалировании у животных опытных групп поисково-исследовательской активности над хаотичными движениями. Об этом же свидетельствует увеличение числа актов груминга на 20 и 35% у крыс, получавших экстракт *F. uniflorum* в дозах 100 и 200 мг/кг. Установлено, что количество болюсов достоверно уменьшалось лишь при введении испытуемого средства в дозе 200 мг/кг.

4.2. Влияние экстракта *F. uniflorum* на поведенческую активность крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Эксперименты были проведены на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180 – 200 г. Исследование проведено с использованием метода приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ), позволяющего оценить поведенческую активность лабораторных животных в незнакомой обстановке (Воронина и соавт., 2012 а). Животным опытных групп водный раствор экстракта *F. uniflorum* корней вводили внутривентрикулярно в дозах 50, 100, 150, 250 мг/кг в объеме 10 мл/кг 1 раз в день в течение 7 дней до тестирования. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Тестирование проводили в утренние часы, во время эксперимента лабиринт освещался ярким светом. Для оценки поведенческой активности регистрировали: латентный период от начала эксперимента до момента ухода с центральной площадки; количество посещений и время пребывания на «открытых» и «закрытых» рукавах лабиринта; количество «свешиваний» через край «открытых» рукавов; количество вертикальных стоек; число актов груминга и дефекаций. Полученные данные представлены в таблице 4.2.1.

Таблица 4.2.1 - Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на поведенческую активность белых крыс в приподнятом крестообразном лабиринте

Показатели		Опытные, экстракт <i>F. uniflorum</i> в дозах, мг/кг				
		Контрольная, n=16	50, n=12	100, n=15	150, n=14	250, n=10
Кол-во заходов	открытый рукав	0,6±0,20	0,7±0,28	1,2±0,2	1,4±0,30*	1,8±0,46*
	закрытый рукав	1,8±0,25	2,6±0,56	2,6±0,63	2,7±0,56	4,6±0,70*
Время нахождения, с	открытый рукав	4,4±1,62	9,3±4,91	13,6±4,32	17,1±3,38*	18,2±3,01*
	закрытый рукав	289,2±2,65	278,1±5,16	272,4±4,31*	270,3±4,61*	287,7±4,31*
	центр. площадка	6,4±1,02	12,6±2,71*	14,0±0,65*	12,6±1,90	14,1±0,78*

Продолжение таблицы 4.2.1					
1	2	3	4	5	6
Вертикальная активность	3,9±0,38	5,0±0,99	5,4±1,36	5,3±0,56*	5,9±1,02*
Кол-во свешиваний	1,4±0,47	2,8±1,09	3,0±0,83	3,0±0,23*	3,8±0,64*
Грумминг	3,6±0,5	2,4±0,68	2,2±0,4*	2,4±0,21*	1,6±0,41
Дефекации	1,5±0,13	0,8±0,24*	1,2±0,11*	0,9±0,23*	0,9±0,26

Результаты тестирования в животных в приподнятом крестообразном лабиринте показали, животные контрольной группы предпочитают большую часть времени проводить в закрытых рукавах, чем в открытых. Курсовое введение животным опытных групп экстракта *F. uniflorum* в дозах 100, 150 и 250 мг/кг снижало чувство страха открытого пространства, в результате чего количество заходов в открытые рукава установки у крыс указанных групп было соответственно в 2,0; 2,3 и 3,0 раза выше показателя крыс контрольной группы. Время пребывания в открытых рукавах лабиринта у животных, получавших испытуемый экстракт в указанных дозах, было соответственно в 3,1; 3,9 и 4,1 раза выше такового показателя крыс контрольной группы. При этом экстракт *F. uniflorum* в дозе 50 мг/кг не оказывал значимого влияния на количество заходов и время пребывания животных в открытых рукавах ПКЛ. При этом время нахождения животных на центральной площадке во всех опытных группах было в среднем в 2,0 раза выше показателя животных контрольной группы.

У животных, получавших экстракт *F. uniflorum* корней, в ПКЛ наблюдалась более высокая двигательная активность по сравнению с крысами контрольной группы. В частности, на фоне введения испытуемого экстракта в дозах 50 – 250 мг/кг количество вертикальных стоек увеличивалось на 28 – 50% по сравнению с контролем. Число свешиваний у крыс этих опытных групп было в среднем в 2 и более раз выше показателя в контроле. О высокой исследовательской активности животных, получавших экстракт *F. uniflorum*, также свидетельствует количество заходов в закрытые рукава лабиринта.

Так, на фоне введения испытуемого экстракта в дозах 50 – 150 мг/кг количество заходов было в среднем в 1,5 раз выше аналогичного показателя животных контрольной группы. Максимальное количество заходов в закрытые рукава ПКЛ наблюдалось у крыс, получавших испытуемый экстракт в дозе 250 мг/кг, указанный показатель в 2,6 раза превышал таковой в контроле.

Повышение исследовательской активности и снижение чувства страха и тревоги у животных, получавших экстракт *F. uniflorum*, можно объяснить снижением у них уровня эмоциональности, о чем свидетельствует статистически значимое уменьшение количества болюсов и актов груминга у крыс опытных групп по сравнению с аналогичными данными в контрольной группе.

4.3. Влияние экстрактов *F. uniflorum* на поведенческую активность крыс в тесте «светлая/темная камера»

Эксперименты были проведены на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180 – 200 г. Испытуемое средство вводили внутривентрикулярно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг в объеме 10 мл/кг 1 раз в день в течение 7 дней до тестирования. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Для оценки уровня тревожности животных использовали метод «светлая/темная камера» (Воронина и соавт., 2012 а). Животных помещали в ярко освещенный отсек двухкамерной светлой/темной установки и в течение 5 минут регистрировали число переходов между светлым отсеком (СО) и темным отсеком (ТО), а также длительность пребывания в них. Полученные данные представлены в таблице 4.3.1.

Таблица 4.3.1 – Влияние экстракта *F. uniflorum* корней на поведение белых крыс в тесте «светлая-темная камера»

Группы животных	Дозы, мг/кг	Количество заходов		Время пребывания, с	
		СО	ТО	СО	ТО
Контрольная (H ₂ O) n=10	-	0,7±0,14	1,7±0,14	15,8±1,40	284,2±1,40
Опытная 1 (<i>F. uniflorum</i>) n=10	50	1,0±0,21	2,0±0,35	26,8±4,57*	273,3±4,56
Опытная 2 (<i>F. uniflorum</i>) n=10	100	1,4±0,14*	2,3±0,13*	31,4±5,72*	268,6±5,72
Опытная 3 (<i>F. uniflorum</i>) n=10	200	1,4±0,23*	2,5±0,19*	34,3±2,45*	265,7±2,45

Как следует из данных, приведенных в таблице 4.3.1, животные контрольной группы предпочитают большую часть времени проводить в темном отсеке установки. Установлено, что курсовое введение животным экстракта *F. uniflorum* в дозе 50 мг/кг сопровождалось увеличением количества заходов в темный отсек камеры на 43% и времени пребывания животных в темном и светлом отсеке соответственно на 17 и 70% по сравнению с данными крыс контрольной группы. Курсовое введение животным испытуемого средства средство в дозах 100 и 200 мг/кг оказывало более выраженное анксиолитическое действие, увеличивая количество переходов между камерами и время пребывания в светлом отсеке в 2 раза по сравнению с аналогичными показателями крыс контрольной группы.

4.4. Влияние экстракта *F. uniflorum* на выработку условной реакции пассивного избегания

Эксперименты были проведены на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180 – 200 г. Влияние экстракта *F. uniflorum* на процессы обучения и памяти определяли по выработке и сохранности условной реак-

ции пассивного избегания (УРПИ) (Островская и соавт., 2012). Животным опытных групп экстракт *F. uniflorum* вводили внутривентрикулярно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг в объеме 10 мл/кг 1 раз в день в течение 7 дней до тестирования. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Регистрировали латентный период и количество животных с выработанным рефлексом через 1 час, 24 часа, 3 суток после обучения. Результаты исследований представлены в таблице 4.4.1.

Таблица 4.4.1- Влияние экстракта *F. uniflorum* на процессы обучения и памяти крыс в тесте УРПИ

Группы	Сроки наблюдения		
	1 час	24 часа	3 суток
Латентный период, с			
Контрольная (H ₂ O)	94,8±8,51	57,6±8,75	32,7±4,63
Опытная 1 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 50 мг/кг) n=8	94,2±25,41	64,7±28,92	63,7±28,02
Опытная 2 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 100 мг/кг) n=8	92,2± 9,84	81,2± 11,04	74,7±10,19*
Опытная 3 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 200 мг/кг) n=8	163,6±11,04*	125,2±14,49*	121,8±29,19*
Количество животных с сохранившимся рефлексом, %			
Контрольная (H ₂ O)	40	20	10
Опытная 1 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 50 мг/кг) n=8	30	20	20
Опытная 2 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 100 мг/кг) n=8	40	40	30
Опытная 3 (экстракт <i>F. uniflorum</i> , 200 мг/кг) n=8	80	60	50

Установлено, что экстракт *F. uniflorum* в дозах 100 – 200 мг/кг стимулирует когнитивные функции у интактных животных, что выражается в ускорении выработки условного рефлекса пассивного избегания и сохранности памятного следа в отдаленные после периода обучения сроки (табл. 4.4.1.). Как следует из представленной таблицы, экстракт *F. uniflorum* в дозе 50

мг/кг не оказывает влияния на исследованные показатели, тогда как при использовании его в дозе 100 мг/кг латентный период захода в темный отсек через 1 и 3 суток увеличивается соответственно на 40% и более чем в два раза по сравнению с аналогичными данными крыс контрольной группы. Более выраженное влияние на когнитивные функции оказывал экстракт *F. uniflorum* в дозе 200 мг/кг: у животных этой группы латентный период захода в темный отсек через 1 час был на 72% выше чем в контроле, а через 24 часа и 3 суток – в 2 и 3,7 раз больше показателей крыс контрольной группы. Наряду с этим, показано, что экстракт *F. uniflorum* в дозе 200 мг/кг существенно продлевает сохранность памятного следа. Так у крыс, получавших испытуемое средство в указанной дозе, через 24 часа рефлекс сохранился у 80% против 40% в контроле, а при исследовании через 1 и 3 суток – у 60 и 50% животных, тогда как у крыс контрольной группы – лишь у 20 и 10% соответственно. Полученные данные свидетельствуют, что испытуемое средство препятствовало угасанию памятного следа в отдаленные сроки наблюдения.

4.5. Влияние экстракта *F. uniflorum* на поведение крыс в конфликтной ситуации

Эксперименты были проведены на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180 – 200 г. Конфликтную ситуацию по Vogel создавали, сталкивая питьевую и оборонительную мотивации, путем подавления болевым электрическим раздражителем питьевого рефлекса при потреблении крысами воды из чашки (Воронина и соавт., 2012 а). Экстракт *F. uniflorum* крысам опытных групп вводили внутривентрикулярно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг в объеме 10 мл/кг 1 раз в день в течение 7 дней до тестирования. Животным контрольной группы вводили эквивалентное количество дистиллированной воды по аналогичной схеме. Об анксиолитическом влиянии исследуемых средств судили по числу наказуемых взятий воды животными. Полученные данные представлены в таблице 4.5.1.

Таблица 4.5.1 – Влияние экстракта *F. uniflorum* на поведение белых крыс в конфликтной ситуации

Группы животных	Дозы, мг/кг	Кол-во наказуемых взятий воды
Контрольная (H ₂ O) n=10	-	2,9 ± 0,19
Опытная 1 (<i>F. uniflorum</i>) n=10	50	3,3 ± 0,15
Опытная 2 (<i>F. uniflorum</i>) n=10	100	5,1 ± 0,48*
Опытная 3 (<i>F. uniflorum</i>) n=10	200	5,4 ± 0,34*

Как следует из представленной таблицы, курсовое введение животным экстракта *F. uniflorum* в указанных дозах сопровождается уменьшением выраженности чувства страха и тревоги в конфликтной ситуации, о чем свидетельствует увеличение количества наказуемых взятий воды животными, получавшими импытуемый фитоэкстракт в дозах 100 и 200 мг/кг, соответственно на 75 и 86% по сравнению с данными крыс контрольной группы. При этом введение экстракта в дозе 50 мг/кг статистически значимого влияния на данный показатель не оказывало.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что курсовое введение животным экстракта *F. uniflorum* повышает ориентировочно-исследовательскую активность животных в незнакомой обстановке; оказывает анксиолитическое действие, уменьшая выраженность чувства страха и тревоги; стимулирует когнитивные функции, ускоряя выработку условных рефлексов и обеспечивая сохранность памятного следа в отдаленные сроки.

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА *F. UNIFLORUM* ПРИ ИММУНОСУПРЕССИВНОМ СОСТОЯНИИ

Действие экстракта *F. uniflorum* корней на иммунную систему исследовали при его введении интактным животным, а также находящимся в иммуносупрессивном состоянии. Было изучено влияние испытуемого экстракта на состояние клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунной системы лабораторных животных.

5.1. Влияние на состояние клеточного звена иммунного ответа

Эксперименты проведены на мышах – самцах линии F1 (СВА х С57В1/6) массой 18–20 г. Состояние иммуносупрессии воспроизводили внутрижелудочным введением цитостатика азатиоприна (АЗ) (ОАО «Мосхимфармпрепараты» им. Н.А. Семашко», Россия) в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки в течение 5 дней. Животным опытной группы водный раствор экстракта *F. uniflorum* вводили внутрижелудочно в экспериментально – терапевтической дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг. Первое введение осуществляли по окончании введения азатиоприна и далее в течение 14 дней 1 раз в сутки за 30 мин до кормления. Интактные животные и животные контрольной группы получали дистиллированную воду в аналогичном объеме. Через сутки после последнего введения испытуемого средства животных декапитировали под легким эфирным наркозом и определяли относительную массу лимфоидных органов (по отношению к массе тела). Действие исследуемого средства на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике локальной ГЗТ (Руководство ..., 2012). Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 часа по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ (I_p) рассчитывали по формуле: $I_p = [(M_{оп} - M_k) / M_k] \times 100\%$, где $M_{оп}$ – масса опытной лапы, M_k – масса контрольной лапы. Полученные данные приведены в таблице 5.1.1.

Таблица 5.1.1 - Влияние экстракта *F. uniflorum* на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа мышей линии F1 (СВА х С57В1/6) при азатиоприновой иммуносупрессии

Группа животных	И _p , %
Интактная (n = 10)	32,4 ± 3,18
Контрольная (АЗ+Н ₂ О) (n = 10)	19,7 ± 1,40
Опытная (АЗ+ экстракт <i>F. uniflorum</i>) (n = 10)	37,7 ± 2,37*

При исследовании влияния экстракта *F. uniflorum* на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что исследуемое средство восстанавливает индекс данной реакции в условиях азатиоприновой иммуносупрессии, о чем свидетельствует повышение индекса реакции ГЗТ у мышей опытной группы в среднем в 2 раза по сравнению с данными контрольной группы животных.

5.2. Влияние экстракта *F. uniflorum* на состояние гуморального звена иммунного ответа

Эксперименты проведены на мышах – самцах линии F1 (СВА х С57В1/6) массой 18–20 г. Состояние иммуносупрессии воспроизводили вышеописанным методом. Животным опытной группы водный раствор экстракта *F. uniflorum* корней вводили внутривентрикулярно в экспериментально – терапевтической дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг. Первое введение осуществляли по окончании введения азатиоприна и далее в течение 14 дней 1 раз в сутки за 30 мин до кормления. Интактные животные и животные контрольной группы получали дистиллированную воду в аналогичном объеме. Через сутки после последнего введения испытуемого средства животных декапитировали под легким эфирным наркозом и определяли количество антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по А.Д. Cunningham (1965). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе $2 \cdot 10^8$ клеток/мышь. Величину иммунного ответа оценивали по числу АОК на

селезенку и на 10^6 клеток с ядрами на 5 сутки после иммунизации. Полученные данные приведены в таблице 5.2.1.

При исследовании влияния экстракта *F. uniflorum* на процессы антителообразования установлено, что данное средство повышает показатели гуморального иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на 10^6 спленоцитов на 39% и 40% соответственно, по сравнению с теми же показателями в интактной группе (табл. 5.2.1).

Таблица 5.2.1 - Влияние экстракта *F. uniflorum* на антителообразование у мышей линии F1 (СВА х С57В1/6) при азатиоприновой иммуносупрессии

Группа животных	Количество АОК на селезенку	Количество АОК на 10^6 спленоцитов
Интактная ($n = 10$)	66591 ± 4997	$166,08 \pm 12,92$
Контрольная (АЗ+Н ₂ О) ($n = 10$)	40717 ± 3387	$99,76 \pm 8,85$
Опытная (АЗ+ <i>F. uniflorum</i>) ($n = 10$)	$77250 \pm 1913^*$	$213,66 \pm 12,27^*$

При введении экстракта сухого *F. uniflorum* на фоне иммуносупрессии наблюдали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов; при этом первый показатель превышал уровень азатиоприновой супрессии в 1,9 раза, а второй – в 2,1 раза по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы.

5.3. Влияние на макрофагальное звено иммунного ответа

Эксперименты проведены на мышах – самцах линии F₁ (СВАхС57В1/6) массой 18–20 г. Водный раствор экстракта *F. uniflorum* вводили животным на фоне азатиоприна в экспериментально – терапевтической дозе 100 мг/кг внутрижелудочно 1 раз в сутки в течение 14 дней за 30 мин до кормления. Интактная группа животных получала дистиллированную воду по аналогичной схеме. Контрольной группе животных вводили азатиоприн внутрижелу-

дочно в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки в течении 5 дней за 30 мин до кормления. Через сутки после последнего введения испытуемого средства животных декапитировали под легким эфирным наркозом. Изучение макрофагального звена иммунной системы проводили в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов мышей в отношении частиц коллоидной туши (Хаитов и соавт, 2012 а).

Таблица 5.3.1 – Влияние экстракта *F. uniflorum* на показатели фагоцитоза макрофагов при азатиоприновой иммуносупрессии у мышей

Группы животных	Фагоцитарный индекс ($E_{620 \text{ нм}}$)
Интактная, n=8	0,130 ± 0,0004
Контрольная (азатиоприн) n=8	0,065 ± 0,0061
Опытная (азатиоприн+ <i>F. uniflorum</i>) n=8	0,127 ± 0,005*

Как следует из данных, представленных в указанной таблице, курсовое введение экстракта *F. uniflorum* при азатиоприновой иммуносупрессии сопровождалось повышением фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов почти в 2 раза по сравнению с аналогичными данными мышей контрольной группы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что экстракт *F. uniflorum* корней обладает фармакотерапевтической эффективностью при иммуносупрессивном состоянии, вызванном азатиоприном, повышая активность всех звеньев иммунного ответа организма.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования показано, что экстракты сухие, полученные из надземной и подземной частей *F. uniflorum*, обладают выраженной адаптогенной активностью – повышая неспецифическую резистентность лабораторных животных к действию экстремальных факторов различной этиологии: иммобилизационному и психо-эмоциональному стрессу, интенсивным физическим нагрузкам, гипоксическим состояниям различного генеза, а также проявляют анксиолитические, ноотропные, иммуномодулирующие, анаболические и антиоксидантные свойства. Широкий спектр адаптогенной активности экстрактов *F. uniflorum* свидетельствует, что под их влиянием формируется состояние неспецифически повышенной резистентности, обусловленного оптимизацией баланса центральных и периферических стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем организма, поскольку в соответствии с современными представлениями развитие общего адаптационного синдрома, открытого Г. Селье (1936), происходит на различных уровнях организации и связано с переходом компенсаторно-приспособительных реакции организма на более высокий уровень гомеостатической регуляции (Пшенникова, 2001; Александровский и соавт., 2005; Постнова и соав., 2013 и др.).

Полученные нами данные свидетельствуют, что центральные механизмы адаптогенного действия экстрактов *F. uniflorum* связаны с ограничением ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой при воздействии экстремальных факторов. В частности об этом свидетельствуют результаты исследования стресс-проективного действия испытуемых средств, свидетельствующие о снижении концентрации основных стрессорных гормонов: адреналина, норадреналина, АКТГ и кортикостерона на фоне эмоционального стресса, что является характерной чертой растительных адаптогенных средств, в том числе – экистероидсодержащих (Тодоров, 2003; Panossian, Wagner, 2005). Наряду с этим центральные эффекты экстрактов *F. uniflorum*

обусловлены активацией стресс-лимитирующих тормозных систем, в частности – с активацией ГАМК-ергической системы. Указанный механизм адаптивного действия испытуемых средств нашел подтверждение в серии экспериментов по изучению их влияния на поведенческую активность животных в конфликтной ситуации и тесте «светлая - темная камера», в которых было показано, что под влиянием испытуемых экстрактов в дозах 50 – 200 мг/кг снижался уровень тревожности и эмоциональности животных. Вместе с этим, установлено, что экстракты *F. uniflorum* способствуют ускорению периода адаптации к новым условиям, о чем свидетельствует повышение ориентировочно-исследовательской активности животных (вертикальной активности и норкового рефлекса), а также уменьшение количества дефекаций у крыс, помещенных в незнакомую обстановку.

Можно полагать, что одним из основных механизмов периферического защитного действия экстрактов *F. uniflorum* является ингибирование процессов свободно-радикального окисления, поскольку известно, что индукция этих процессов является триггерным механизмом перехода физиологической фазы стресс-реакции в патологическую фазу и развития патологических процессов и заболеваний (Зенков и соавт., 2001; Меньщикова и соавт., 2006; 2008). Нами показано, что ингибирование процессов СРО под влиянием испытуемых экстрактов связано с наличием прямого антирадикальной активности биологически активных веществ, входящих в состав экстрактов, так и их способностью повышать мощность эндогенной антиоксидантной системы организма. Так, курсовое введение испытуемых экстрактов в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг при иммобилизационном и эмоциональном стрессе, а также на фоне интенсивной физической нагрузки сопровождалось уменьшением концентрации конечного продукта процессов СРО – малонового диальдегида, а также повышением концентрации восстановленного глутатиона в крови и активности ферментных систем антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы. Ингибирование процессов СРО было подтверждено также в экспериментах *in vitro*, в которых было показано,

что внесение экстрактов *F. uniflorum* в модельную систему сопровождается снижением скорости накопления малонового диальдегида. Известно, что указанные механизмы антиоксидантной защиты являются характерными для растительных адаптогенных средств и связаны с наличием в их составе фенольных соединений и экидистероидов (Тодоров и др., 2000; Wilson, 2007; Schriener et al., 2009; Panossian, Wikman, 2010). Учитывая, что следствием индукции процессов СРО является повреждение мембранных структур клеток с нарушением их морфо-функционального состояния, можно полагать, что стресс-протективные свойства экстрактов *F. uniflorum* связаны с повышением резистентности мембран к повреждающему действию экстремальных факторов, поскольку данный механизм был ранее установлен для других экидистероидсодержащих средств (Сыров, 1992; Петрова, 2012; Tuganova, 1996). Наличие мембраностабилизирующих свойств у экстрактов *F. uniflorum* корней и травы было подтверждено нами в серии экспериментов *in vitro*, в которых было показано повышение устойчивости мембран эритроцитов донорской крови к перекисному и осмотическому гемолизу. Нами показано, что антиоксидантные свойства испытуемых экстрактов во многом связаны со способностью биологически активных веществ, входящих в их состав, оказывать прямое антирадикальное действие. Из них по данным литературы наиболее выраженной антирадикальной активностью обладают вещества фенольной природы, а также экидистероиды (Барабой, 1997; Sonnenborn, Propert, 1991; Panossian, Wikman, 2010). В частности, было установлено, что экстракты *F. uniflorum* в широком диапазоне доз оказывают радикал-связывающее действие в отношении супероксидных анион-радикалов, радикалов оксида азота иДФПГ – радикалов. Кроме того было установлено опосредованное антиоксидантное действие, связанное с их хелатирующей активностью в отношении ионов железа, что способствует ограничению скорости свободнорадикальных реакций.

Характерной особенностью адаптогенных средств является их способность повышать физическую и умственную работоспособность (Арушанян,

2008; Panossian, Wagner, 2005, Panossian, 2013), что было установлено и в отношении экстрактов, полученных из корневищ и травы *F. uniflorum*. Нами показано, что курсовое введение испытуемых экстрактов в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг сопровождается повышением общей физической выносливости белых крыс, на что указывает увеличение времени плавания животных до полного утомления. Исследование механизмов актопротекторного действия экстрактов *F. uniflorum* показало, что их введение на фоне интенсивных физических нагрузок оптимизирует энергетический обмен, стимулируя процессы ресинтеза АТФ в работающих мышцах: скелетных и миокарде. Также под их влиянием повышается уровень энергетических запасов в виде гликогена в печени; уменьшается выраженность метаболического ацидоза, о чем свидетельствует снижение концентрации молочной кислоты в мышцах; снижается интенсивность процессов свободнорадикального окисления и повышается мощность эндогенной антиокислительной системы организма животных. Очевидно, что оптимизация энергетических процессов при интенсивной физической нагрузке также связана со стабилизацией мембранных структур клеток, в частности мембран митохондрий, что способствует повышению их функциональной активности и улучшению энергообеспечения работающих тканей и органов. Наличие актопротекторных свойств, характерное для экидистероидсодержащих адаптогенов (Володин и соавт., 2003; Сыров и соавт., 2016), обусловлено также способностью экстрактов *F. uniflorum* улучшать кислородное обеспечение интенсивно работающих тканей, тем самым активируя процессы окислительного фосфорилирования и ограничивая анаэробные процессы. В частности, нами показано, что испытуемые экстракты обладают выраженной антигипоксической активностью, повышая резистентность животных к кислороддефицитным состояниям различного генеза: к гипоксической гипоксии с гиперкапнией, к гемической и тканевой гипоксии. Тем самым экстракты *F. uniflorum* расширяют все лимитирующие звенья энергетического обмена: активируют кислородтранспортные механизмы и ферментные системы дыхательной цепи митохондрий, что

сопровождается превалированием доли аэробного ресинтеза АТФ над анаэробным, и соответственно, уменьшением выраженности метаболического ацидоза, являющегося лимитирующим фактором работоспособности.

Механизмы адаптогенного действия исследуемого фитосредства также связаны с активацией стресс-лимитирующих тормозных систем ЦНС, что нашло подтверждение в серии экспериментов по изучению влияния экстракта *F. uniflorum* корней на поведенческую активность животных: его курсовое введение в экспериментально-терапевтических дозах сопровождалось снижением уровня тревожности и эмоциональности в незнакомой обстановке и конфликтной ситуации. Также установлено, что экстракт *F. uniflorum* в дозе 100 мг/кг стимулирует когнитивные функции, о чем свидетельствует ускорение времени выработки условного рефлекса и сохранность памятного следа в отдаленные сроки наблюдения. Указанное свойство также подтверждает наличие адаптогенных свойств у испытуемого экстракта, поскольку способность повышать умственную работоспособность характерна для адаптогенных средств (Арушанян, 2008; Горькавая и соав., 2012).

Особого внимания заслуживает установленная нами иммуномодулирующая активность экстракта *F. uniflorum* корневищ, заключающаяся в повышении активности гуморального, клеточного и макрофагального звена иммунного ответа в условиях иммуносупрессии. Очевидно, что иммуномодулирующие свойства испытуемого экстракта также обусловлены наличием фитоэкдистероидов, для которых они являются характерными (Фомовская, 1992; Репина, 2007; Пунегова, 2009; Бобаев, 2012).

Ведущим молекулярно-клеточным механизмом защитного действия экстрактов *F. uniflorum* является ограничение процессов свободнорадикального окисления поскольку известна роль свободных радикалов в механизмах развития стрессорных повреждений – т.н. «окислительного стресса». Ингибирование процессов СРО обеспечивается экдистероидами и фенольными соединениями *F. uniflorum* и обладающими прямым радикалсвязывающими свойствами (Сафонова и соавт., 2001; Бурлакова, 2007). Вместе с тем, реали-

зация антиоксидантного действия экстрактов связана со способностью экистероидов *F. uniflorum* активировать антиоксидантные ферменты (Измайлов, Владимиров, 2003; Зенков и соавт., 2010; Студенцов и соавт., 2013), а также восполнять пул структурных антиокислителей, что в конечном итоге обеспечивает ингибирование процессов СРО, ведущих к нарушению функциональной и структурной состоятельности биологических мембран при воздействии экстремальных факторов (Николаев, 2010; Максименко, Ваваев, 2010).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экстракты сухие, полученные из подземной и надземной частей *F. uniflorum* при интрагастральном курсовом введении в экспериментально-терапевтических дозах 50 – 200 мг/кг повышают устойчивость лабораторных животных к иммобилизационному и эмоциональному стрессу, интенсивным физическим нагрузкам, кислороддефицитным состояниям. Введение животным указанных фитосредств ограничивает развитие «триады Селье», замедляя инволюцию иммунокомпетентных органов, гипертрофию надпочечников, развитие язвенных повреждений слизистой оболочки желудка при стрессе, что связано с ограничением гиперактивации симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой систем, с одновременной активацией центральных и периферических стресс-лимитирующих систем – ГАМК-ергической, антиоксидантной, иммунной. При изучении актопротекторной активности экстрактов *F. uniflorum* выявлено повышение общей физической выносливости животных, обусловленное активацией процессов окислительного фосфорилирования, увеличением энергетических запасов клеток, стимуляцией синтеза белка в скелетных мышцах, снижением выраженности метаболического ацидоза, ингибированием процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул. При введении испытуемых средств повышается устойчивость организма к гипоксическим состояниям различного генеза, что способствует улучшению кислородной обеспеченности клеток. Фармако-терапевтическая эффективность испытуемых средств не уступает таковой у препарата сравнения – экстракта левзеи сафлоровидной, при этом активность экстракта надземной части *F. uniflorum* по ряду параметров превосходит таковую у экстракта, полученного из корневищ растения.

Курсовое введение экстрактов *F. uniflorum* стимулирует ориентировочно-исследовательскую активность животных в новой обстановке, оказывает выраженное анксиолитическое влияние на ЦНС, что ускоряет период адаптации животных к новым потенциально опасным условиям. Иммуномодулирующее действие испытуемых экстрактов при азатиоприновой иммуносупрес-

сии выражается в повышении активности клеточного, макрофагального и гуморального звеньев иммунитета. Показано, что под влиянием экстрактов *F. uniflorum* формируется состояние неспецифически повышенной сопротивляемости организма, обусловленное ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих и активацией стресс-лимитирующих систем организма. Периферические механизмы адаптогенного действия испытуемых средств связаны с ингибированием процессов свободнорадикального окисления и повышением устойчивости мембранных структур клеток к экстремальным воздействиям.

Полученные данные свидетельствуют, что надземная и подземная части *F. uniflorum* являются перспективными источниками ценных биологически активных веществ – фитостероидов и могут быть использованы в качестве эффективных заменителей официального растительного сырья – корневищ левзеи сафлоровидной. Установленные адаптогенные свойства экстрактов сухих *F. uniflorum* аргументируют целесообразность их применения в качестве средств, повышающих неспецифическую сопротивляемость организма.

ВЫВОДЫ

1. Курсовое введение экстрактов, полученных из подземной и надземной частей *F. uniflorum*, в экспериментально-терапевтических дозах оказывает выраженное стресс–протективное действие при иммобилизационном и эмоциональном стрессе.

2. Указанные экстракты повышают устойчивость организма к действию интенсивных физических нагрузок и к кислороддефицитным состояниям различного генеза, оказывают анаболическое действие.

3. Экстракты *F. uniflorum* повышают ориентировочно–исследовательскую активность, снижают уровень тревожности и эмоциональности животных в незнакомых условиях, стимулируют когнитивные функции животных.

4. Испытуемые экстракты оказывают иммуномодулирующее действие, повышая активность основных звеньев иммунной системы при иммуносупрессивном состоянии.

5. Под влиянием экстрактов *F. uniflorum* формируется состояние неспецифически повышенной резистентности, связанное с ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих и активацией стресс-лимитирующих систем организма.

6. Периферические механизмы адаптогенного действия корневищ и травы *F. uniflorum* связаны с ингибированием процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, что обеспечивает защиту клеточных структур от окислительной деструкции, а также с повышением энергетического потенциала клеток и активацией процессов синтеза структурных и функциональных белков.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Выраженные адаптогенные свойства экстрактов, полученных из надземной и подземной частей *Fornicium uniflorum* аргументируют целесообразность разработки и внедрения в клиническую практику новых фармакологического средств с адаптогенной активностью, предназначенных для повышения работоспособности, предупреждения утомления при повышенных психических и физических нагрузках у практически здоровых лиц, а также работающих на производстве с вредными условиями труда; для повышения сопротивляемости инфекциям, при астенических состояниях, в период реабилитации после перенесенных тяжелых заболеваний, а также в качестве анаболического средства для спортсменов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян Н.А. Гипоксические, гипокапнические, гиперкапнические состояния / Н.А. Агаджанян, А.Я. Чижов. - М., 2003. – 254 с.
2. Азам Н. Антиоксидантная активность лекарственных субстанций и биологически активных веществ /Н. Азам, О.А. Горошко, В.П. Пахомова //Традиционная медицина. -2009. -№ 1. –С. 35 – 38.
3. Акопов И. Э. Важнейшие отечественные лекарственные растения и их применение / И. Э. Акопов // Ташкент: Медицина, 1990. - С. 35-37.
4. Алейникова Т.А. Количественное определение макроэргических соединений мышц (АТФ, креатинфосфата) / Т.А. Алейникова, Г.В. Рубцова // Руководство к практическим занятиям по биологической химии. – 1988. – С. 115-117/
5. Алексеева Л.И. Фитоэкдистероиды / Л.И. Алексеева, В.В. Володин, С.О. Володина //Санкт-Петербург: Наука, 2003. – С. 293.
6. Амосова Е.Н. Поиск новых противоязвенных средств из растений Сибири и Дальнего Востока / Е.П. Зуева, Т.Г. Разина // Экспер. и клинич. фармакология. - 1998. – Т. 61. – С. 31-35.
7. Арушанян Э.Б. Препараты корня женьшеня и других растительных адаптогенов как ноотропные средства / Э.Б. Арушанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, №6. – С.58-66.
8. Балтаев, У. А. Фитоэкдистероиды *Rhaponticum carthamoides*. II Рапистерон В / У.А. Балтаев //Химия природ, соединений. - 1991. - № 6. - С. 806-808.
9. Балтаев, У. А. Фитоэкдистероиды: структура, источники и пути биосинтеза в растениях / У.А. Балтаев // Биоорганическая химия. – 2000. - №26 (12). - С. 892-925.
10. Барабой В.А. Биологическое действие растительных полифенольных соединений / В.А. Барабой // – Киев, 1997. – 59 с.
11. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин, Ю.Б. Кудряшов // СПб.: Наука. – 1992. – 148 с.

12. Барнаулов О.Д. Стресс-лимитирующие свойства классических фитодаптогенов / О.Д. Барнаулов, Т.В. Осипова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10, №3. – С. 40 – 49.

13. Бебякова Н.А. Влияние агониста μ -опиатных рецепторов DAGO на тонус периферических сосудов при остром стрессе / Н.А. Бебякова, С.Н. Курицын, Т.М. Семушкина, С.Д. Михайлова // Вестник российского государственного медицинского университета. – 2010. – №3. – С. 70 – 73.

14. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький // Л.: Медицина. – 1963. – 150 с

15. Брехман И.И. Использование филогенетической системы растений в поисках новых фармакологически активных веществ / И.И. Брехман // Изучение и использование лекарственных ресурсов СССР. – М.: Медицина. – 1964.

16. Брехман И.И. Элеутерококк / И.И. Брехман // Л.: Наука. – 1986. — 156 с.

17. Бунева В.Н. Каталитически активные иммуноглобулины как специфические антиоксиданты крови человека при окислительном стрессе / В.Н. Бунева, Е.А. Блинова, Г.А. Невинский // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т.9, №4. – С. 67-69.

18. Василенко Н.Л. Ферменты прямой, эксцизионной и коррекционной систем репарации высших и низших организмов и их биологическая роль / Н.Л. Василенко, Г.А. Невинский // Молекулярная биология. – 2003. – Т. 37. – 3 6. – С. 944–960.

19. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН. - 1998. – № 7. – С. 898-902.

20. Володин В.В. Экдистероиды в мировой флоре / В.В. Володин, И.Ф. Чадин // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. - 2003. - № 67. – С. 2-11.

21. Володина С. О. Технология получения субстанций 20 гидроксидкислона - аналога тонизирующего препарата «Экдистен»/ С. О. Володина, В. В.

Володин // Химия и технология растительных веществ: тезисы докл. Всерос. конф. - Сыктывкар, 2010. - С. 41.

22. Володина С.О. Ресурсы, биотехнология и использование экистероидсодержащих растений /С.О. Володина, В.В. Володин, И.Ф. Чадин //Известия Самарского научного центра РАН. - 2010. –Т. 12, № 1 (3). –С. 668 – 674.

23.Володина С.О. Экистероиды растений Урала , Кавказа, Российского Дальнего востока и Китая (выборочный скрининг) /С.О. Володина, В.В. Володин, П.Г. Горовой, К.Г. Ткаченко, Е.В. Новожилова, М.М. Ишмуратова, И.Ф. Чадин, В.А. Канев, Ши Лей // Turczaninowia. - 2012. - 15 (4). –С. 58–75.

24.Воробьева, А. Н. Таксономия и распространение *Stemmacantha uniflora* (L.) Dittrich (Asteraceae) в Восточной Азии / А. Н. Воробьева, П. Г. Горовой // Turczaninowia. - 2005. - Т. 8, вып. 3. -С. 16-21.

25.Воронина Т.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия / Т.А. Воронина, Р.У. Островская, Т.Л. Гарибова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012 а. С. 285-287/

26.Воронина Т.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств /Т.А. Воронина, С.Б. Середин, М.А. Яровая, М.В. Воронин //Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012 б. С. 264 – 276/

27. Гармаева Л.Л. Фармакогностическое исследование *Fornicium uniflorum* L. и разработка средства, обладающего стресспротективной и антигипоксической активностью /Л.Л. Гармаева. Дисс. на соиск. уч. ст. канд. фарм. н. – Улан-Удэ, 2016. -209 с.

28. Генкина, Г. Л. Технология и анализ таблеток экистена / Г. Л. Генкина // Фармация. - 1993. - № 3. - С. 18-21.

29. Головкин Н.Г. Изменение жесткости артериальных стенок под влиянием беговых нагрузок / Н.Г. Головкин, О.А. Плужников, В.Д. Богачев // Теория и практика физической культуры. – Москва, 2012. – № 3. – С. 24 – 26.

30. Гончаренко Е.Н. Противолучевые средства природного происхождения/ Е.Н. Гончаренко, Ю.Б. Кудряшов //Успехи современной биологии. – 1991. –Т.II, вып.2. –С.302-316.

31. Горовой П. Г. Род *Rhaponticum* Vail. (Asteraceae: Cardueae – Centaureinae) в Сибири и на Дальнем Востоке // Turczaninowia. – 2010. – Т. 13, вып 4. С. 68–73.

32. Грубова Е.А. Применение экстракта родиолы розовой в комплексной терапии больных раком яичника / Е.А. Грубова, В.И. Купин, Ф.Ф. Бланко // Тез. докл. III Украинской конф. по медицинской ботанике. - Киев, 1992. - Ч. II. - С.5.

33. Давыдов В.В. Гепатозащитное действие адаптогенных фитопрепаратов при остром токсическом повреждении печени / В.В. Давыдов, Д.С. Молоковский, Т.Ф. Рахманина, Я.Г. Трилис // Традиционная медицина: теоретические и практические аспекты. - Чебоксары. - 1996. - Ч. 1. -С. 7-9.

34. Дардымов И.В. Женьшень, элеутерококк (к механизму биологического действия) / И.В. Дардымов // М.: Наука, 1976. — 184 с.

35. Дармограй В.Н. Превентивное и терапевтическое действие фитостероидов при индуцируемых анемиях и лейкопениях / В.Н. Дармограй, В.К. Петров, В.А. Гордеев, Ю.И. Ухов // VIII Росс. нац. конгр. «Человек и лекарство», Тез. докладов. – М., 2001. – С. 315 – 316.

36. Дармограй В.Н. Теоретическое и клиническое обоснование концептуальной модели механизма действия фитостероидов / В.Н. Дармограй, В.К. Петров, Ю.И. Ухов // Биохимия на рубеже XXI века. Межрег. сб. науч. тр. – Рязань. – 2002. - С. 489-49.

37. Дармограй В.Н. Фитостероиды и фертильные факторы как активаторы синтоксических программ адаптации / В.Н. Дармограй, Ю.В. Кара-

сева, В.Н. Морозов, В.И. Морозова, Е.М. Наумова, А.А. Хадарцев // Вестник новых медицинских технологий. – 2005. – Т. 12, № 2. – С. 82 – 84.

38. Дворецкий Д.П. Эндотелий-зависимая реализация биомеханических влияний на реактивность и тонус кровеносных сосудов / Д.П.Дворецкий, Г.В. Чернявская, Н.Х. Шадрина, В.Ф. Шаленков, Н.Я. Шустова, А.Т. Матчанов, // Институт физиологии им. И.П.Павлова РАН: отчет о НИР/НИОКР. – Санкт-Петербург, 1994.

39. Дикорастущие полезные растения флоры Монгольской народной республики. –Л., 1985. -235 с.

40. Дранник Г.М. Иммуностропные препараты / Г.М. Дранник, Ю.Я. Гриневич, Г.М. Дизик. - Киев, 1994. –288 с.

41. Дубинина Е.Е Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека. / Е.Е. Дубинина, Л.А. Сальникова, Л.Ф. Ефимова //Лабораторное дело. – 1983. - №10. – С.30-33/

42. Зайцева Е. Н. Анализ антидепрессантной активности препаратов и БАВ элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus*) / Е. Н. Зайцева // Вестник ФГБОУ ВИАР. - 2016. - С. 590-592.

43. Зенков Н.К. Окислительный стресс / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньшикова. – М., 2001. – 343 с.

44. Зуева Е.П. Повышение работоспособности экспериментальных животных, вызываемое введением экстракта из бадана тихоокеанского / Е.П. Зуева, Е.Н. Амосова //Матер. второй респ. конф. по медицинской ботанике. – Киев. –1988. –С.241.

45. Киселёва Т.П. Общий адаптационный синдром / Т.П. Киселёва // Академический журнал Западной Сибири. – 2013. – Т. 9, № 5 (48). – С. 81 – 83.

46. Клебанов Г.И. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопропротеидов / Г.И. Клебанов, М.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин // Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59–62/

47. Ковалев И.Е. Влияние эномеланина на гемолиз эритроцитов, вызываемый свободнорадикальными реакциями и другими факторами / И.Е. Ковалев, Н.П. Данилова, С.А. Андронати, Ю.Л. Жеребин // Фармакол. и токсикол. – 1986. – № 4. – С. 89–91.

48. Коган А.Х. Свободнорадикальные перекисные механизмы патогенеза ишемии и инфаркта миокарда и их фармакологическая регуляция / А.Х. Коган, А.Н. Кудрин, Л.В. Коктурский, Н.И. Лосев // Патол. физиол. И эксперим. терапия. –1992. -№2. –С.5-15.

49. Колб В.Г. Клиническая биохимия. / В.Г. Колб, В.С. Камышников. - Минск. – 1976. – 231 с.

50. Копнин А.А. Современное состояние исследований в области применения адаптогенных препаратов: научный обзор / А.А. Копнин, Т.Д. Даргаева, Т.А. Сокольская, Т.В. Лукашина, М.Н. Лякина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 2. – С. 12 – 16.

51. Королюк М.А. Методы определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова //Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-19.

52. Кост Н.В. Нейропептиды в регуляции тревоги / Н.В. Кост, В.К. Мешавкин, А.А. Зозуля // Психиатрия. – 2010. – № 4 (46). – С. 64 – 75.

53. Костюченков Ю.Ф. Влияние фармакологических средств на развитие гемической гипоксии / Ю.Ф. Костюченков, Н.Ф. Фаращук // Фармакол. и токсикол. -1982. -№ 1. -С 76-79.

54. Куваев В.Б. Предварительная химическая оценка лекарственных растений тибетской медицины, произрастающих в Забайкалье /В.Б. Куваев, К.Ф. Блинова //Вопросы фармакогнозии. -1961. – Вып. 1. –С. 113 – 162.

55. Кэттайл В.М. Патофизиология эндокринной системы / В.М. Кэттайл, Р.А. Арки // Бином. - Санкт-Петербург. – 2001. – С. 336.

56. Лазарев Н.В. Актуальные вопросы изучения действия адаптогенов, в том числе элеутерококка колючего / Н.В. Лазарев // Материалы симп. по элеутерококку и женьшеню. – Владивосток. - 1962. - С. 7-10.

57. Лазарев Н.В. Состояние неспецифически повышенной сопротивляемости / Н.В. Лазарев, Е.И. Люблина, М.А. Розий // Пат. физиол. и эксперим. терапия. – 1959. – Т.3. - №4. – С.16-24.
58. Лазарева Л.Н. Стимуляторы иммунитета / Л.Н. Лазарева, Е.К. Алехин. - М., 1985. – 255 с.
59. Лебедев А.А. Модуляция центральных механизмов стресса введением кортиколиберина и БТШ в раннем онтогенезе / А.А. Лебедев, В.П. Стеценко, В.П. Ганопольский, С.В. Марков, И.В. Воейков, Г.В. Саблина, О.А. Яковлева, П.Д. Шабанов // XX съезд физиол. об-ва им. И.П. Павлова. Тез. докл. - М. - 2007. - С. 304.
60. Лишманов Ю.Б. В-эндорфин и стресс-гормоны плазмы крови при состояниях напряжения и адаптации / Ю.Б. Лишманов, Ж.В. Трифонова, А.Н. Цибин // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1987. – № 4. – С. 422 – 424.
61. Лукьянова Л.Д. Методические рекомендации по скринингу и доклиническому испытанию антигипоксических средств / Л.Д. Лукьянова // М., 1989. – 12 с.
62. Лыско А.И. Каталитические антиоксиданты: потенциальные терапевтические средства для коррекции патологий, вызываемых оксидативным стрессом / А.И. Лыско, А.М. Дудченко // Патогенез. – 2013. – Т. 11, № 3. – С. 22 – 28.
63. Максименко А. В. Ферментные антиоксиданты – следующий этап фармакологического противостояния окислительному стрессу / А.В. Максименко, А.В. Ваваев // Молекулярная медицина. – 2010. – № 2. – С. 9 – 14.
64. Малышев И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Биохимия. – 1998. – 63(7). - С. 992-1006.
65. Машковский М.Д. Лекарственные средства /М.Д. Машковский. –М., 2012. -1216 с.
66. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс, профилактика /Ф.З. Меерсон. –М. - 1981. -256 с.

67. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон // М.: Медицина. – 1984. – 270 с.
68. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова // М.: Медицина. – 1988. – 256 с.
69. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфакин // М.: Фирма "Слово". – 2006. – 556 с.
70. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, И. А. Бондарь, В. А. Труфакин // Новосибирск. – 2008. – 284 с.
71. Миронова В.Н. Гипохолестеролемический эффект фитоэкдизионов в экспериментальной гиперхолестеролемии на крысах / В.Н. Миронова, Ю.Д. Холодова, Т.Ф. Скачкова // Вопросы медицинской химии. – 1982. – 3. – С. 101 – 104.
72. Наймушина А.Г. Психоэмоциональный стресс / А.Г. Наймушина. – Тюмень, 2009. - 144 с.
73. Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний / С.М. Николаев. - Улан – Удэ. - 2012. – 286 с.
74. Николаев С.М. Способ получения средства, обладающего стресс-протективной и антигипоксической активностью / С.М. Николаев, И.Г. Николаева, Л.Н. Шантанова. Патент RU № 2582282. Оpubл. 20.04.2016. Бюлл. №11.
75. Николаева Г.Г. Левзея одноцветковая и серпуха васильковая перспективные экдистероидсодержащие 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.91-96.
76. Огурцов С.И. Митохондриальная и ядерная глюкокортикоид-чувствительные протеазы тимоцитов / С.И. Огурцов, А.С. Духанин, А.А. Темнов // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – Т. 132, № 7. – С. 23 – 25.

77. Островская Р.У. Методические рекомендации по изучению нейролептической активности лекарственных средств /Р.У. Островская, К.С. Раевский, Т.А. Воронина, Т.Л. Гарибова, Г.И. Ковалев, В.С. Кудрин, В.Б. Наркевич, П.М. Клодт // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М., 2012. – С. 256 – 258.
78. Пашинский В.Г. Теория фитотерапии / В.Г. Пашинский. –Томск. - 2014. 332 с.
79. Поветьева Т.Н. Механизмы адаптогенного действия лекарственных растений Сибири: Автореф. дисс. ...д.б.н. –Томск. –2002. -32 с.
80. Португалов С. Н. Сравнение анаболизирующего действия недопинговых препаратов растительного происхождения: экдистена, леветона и "Прайм плас" / С. Н. Португалов, В. В. Панюшкин, Т. Ф. Абрамова // Теория и практика физической культуры. – 1996. – № 9. – С. 47-49.
81. Порядин Г.В. Стресс и патология / Г.В. Порядин // М.: РГМУ. – 2009. – 23 с.
82. Продиус П.А. Адаптоген АДАПТ модулирует стрессиндуцированный синтез HSP70 и повышает устойчивость организма к тепловому шоку / П.А. Продиус, Е.Б. Манухина, А.Е. Буланов //Бюлл. exper. биол. и медиц. - 1997. -№6. -С.629-631.
83. Пчеленко Л.Д. Адаптогенный эффект экдистероидсодержащей фракции *Serratula coronata* L. / Л.Д. Пчеленко, Л.Г. Метелкина, С.О. Володина // Химия растительного сырья, 2002, 1, С.69-80.
84. Путилина М.В. Астенические расстройства в общемедицинской практике / М.В. Путилина //Поликлиника. -2015. -№5 (1). – С. 18 – 26.
85. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // Патологич. физиол. и эксп. терапия. – 2001. – № 2. – С. 26 – 30.
86. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // Патол. Физиол. -2000. –№3. –С. 20-26.

87. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // Патол. Физиол. -2000. –№2. –С. 24-31.
88. Пшенникова М.Г. Синтез белков теплового шока (HSP-70) в лейкоцитах крови как показатель устойчивости к стрессорным повреждениям / М.Г. Пшенникова, О.М. Зеленина, С.В. Круглов //Бюлл. exper. биол.- 2006. – т.142. - № 12. – с.614-617.
89. Разина Т.Г., Удинцев С.И., Прищеп Т.П. и др. Повышение избирательности действия цитостатиков циклофосфана и 5-фторурацила с помощью экстракта шлемника байкальского в эксперименте / Т.Г. Разина, С.И. Удинцев, Т.П. Прищеп //Вопр. онкологии. –1987. –Т.33, №2. –С.80-84.
90. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ / Под общей редакцией члена – корреспондента РАМН Р.У. Хабриева. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
91. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова, Н.Д. Бунятына и др. – М., 2012. - 944 с.
92. Сапожников А.М. Функции белков теплового шока в популяциях лимфоидных клеток / А.М. Сапожников // Дисс. д.б.н. - М., 2003. - 224 с.
93. Санданов Д.В. *Fornicium uniflorum* (Asteraceae) в Забайкалье: распространение, экология, структура сообществ и популяций / Д.В. Санданов, Н.А. Дулепова, Л.Л. Гармаева // Растительный мир Азиатской России. - 2016. - № 2. - С. 25–31.
94. Сафонова Г.М. Протективные эффекты растительных полифенольных соединений на иммунную систему при остром стрессе / Г.М. Сафонова, Ю.И. Шилов, А.Б. Перевозчиков // Доклады академии наук. – 2001. – Т. 378, № 5. – С. 697 – 699.
95. Сейфулла Р. Д. Адаптогены и физическая работоспособность / Р. Д. Сейфулла, И. А. Анкундинова, А. П. Азизов. – Москва, 1997. – 62 с.

96. Сейфулла Р. Д. Спортивная фармакология / Р. Д. Сейфулла. – М.: Спорт-Фарма Пресс, 1999. – 120 с.
97. Сейфулла Р.Д. Лекарства и БАД в спорте: Практическое руководство для спортивных врачей, тренеров и спортсменов / Р.Д. Сейфулла, З.Г. Орджоникидзе, Г.З. Орджоникидзе // М., Литтерра. – 2003. – С. 320.
98. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье // М.: Медгиз., 1960. – 255 с.
99. Селье Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. - М.: «Прогресс», 1982. – 127 с.
100. Сергиенко В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению фармакологических веществ / Под общей редакцией члена – корреспондента РАМН Р.У. Хабриева. - М.: 2000. – 263 с.
101. Слепухин В.Д. Роли нейропептидов в механизме развития стресса и шока / В.Д. Слепухин, Г.К. Золоторев // Механизмы патологических реакций. – Томск, 1986. – Т. 4. – С. 86 – 90.
102. Сидорова Ю.С. Изучение влияния *in vivo* экстракта серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) на биомаркеры общего адаптационного синдрома /Ю.С. Сидорова, К.Е. Селяскин, С.Н. Зорин, Л.С. Василевская, В.В. Володин, В.К. Мазо //Натуротерапия. -2014. -№ 1 (37). –С. 57 – 62.
103. Ставрова, Р.Ф. Сухой экстракт левзеи как стимулятор неспецифической резистентности организма / Р. Ф Ставрова, Г. В. Оболенцева // Украинская конф. по медицинской ботанике (3; 1992; Кмев): тез. докл. – Киев, 1992. – Ч. 1. – С. 133-135.
104. Сумбаев В.В. Активность протеинкиназы, регулирующей апоптогенный сигнал 1, поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы и межнуклеосомная фрагментация ДНК в печени крыс в условиях оксидативного стресса, вызванного хлоридом кобальта / В.В. Сумбаев // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 2. – С. 148 – 149.

105. Сур С.В. Проблемы и перспективы разработки и внедрения современных лекарственных средств растительного происхождения / С.В. Сур, Э.Н. Гриценко // Фарматека. – 2001. – № 9. – С. 10 – 14.

106. Сыров, В. Н. Влияние экистерона на содержание белка, гликогена и жира в печени, сердце и мышце белых крыс / В. Н. Сыров, М. И. Айзиков, А. Г. Курмуков // Доклады Академии наук УзССР. – 1975. – № 8. – С. 37-38.

107. Сыров, В.Н. К механизму анаболического действия фитоэкистероидов / В.Н. Сыров // Науч. докл. высш. шк. : Биол. науки. - 1984. - № 11, С. 16-20.

108. Сыров, В.И. Действие экистероидов на желчеотделительную функцию печени в норме и при экспериментальном гепатите / В.Н. Сыров, А.Н. Набиев, М.Б. Султанов // Фармакология и токсикология. - 1986. - № 3. - С. 100-103.

109. Сыров В.Н. Антиоксидантная активность некоторых растительных фенольных соединений / В.Н. Сыров, З.А. Хушбактова, В.М. Гукасов // Хим. фарм. журн. – 1987. – Т. XX1. № 1. – С. 59 – 62.

110. Сыров В.Н. Сравнительное изучение анаболической активности фитоэкистероидов и стеранаболов в эксперименте / В.Н. Сыров //Химико-фармац. журн. -2000.-№4. -С.31-35.

111. Сыров В.Н. Стресс-протекторные свойства фитоэкистероидов /В.Н. Сыров, Ж.И. Исламова, Ф.Р. Эгамова, Н.Х. Юлдашева, З.А. Хушбактова //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77, № 7. – С. 35 – 38.

112. Сюткина Н.И., Купин В.И., Бланко Ф.Ф. Иммуномодулирующее и противоопухолевое действие препаратов из семейства аралиевых //Тез. докл. III Украинской конф. по медицинской ботанике. – Киев. - 1992. – Ч. 1. – С. 44.

113. Темирбулатов Р.А. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагно-

стическое значение / Р.А. Темирбулатов, Е.И. Селезнев // Лаб. дело. – 1981. - № 4. – С. 209-211.

114. Теселкин Ю.О. Взаимодействие дигидрокверцетина с ионами двухвалентного железа / Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, И.А. Руленко // Биоантиоксидант. – Тюмень, 1997. – С. 22 – 24.

115. Тимофеев Н.П. Промышленные источники получения экистероидов. Часть I. Ponasterone и muristerone / Н.П. Тимофеев // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. Сб. науч. трудов. М., РАЕН, 2003, 9, С.64-86.

116. Тимофеев Н.П. Исследования по экистероидам: Использование в медицине, Интернет-ресурсы, источники и биологическая активность / Н.П. Тимофеев // Биомедицинская химия. - 2004. - № 50 (Прил. 1). - С.133-152.

117. Тимофеев Н.П. Фитоэкистероиды: фармакологическое использование и активность (обзор) / Н.П. Тимофеев // Медицинские науки. - 2005. Т.4, №10. - С. 26-66.

118. Тодоров И.Н. Влияние экистерона на биосинтез белков и нуклеиновых кислот в органах мышечной ткани / И.Н. Тодоров, Ю.Н. Митрохин, О.И. Ефремова, Л.И. Сидоренко // Химико-фармацевтический журнал. - 2000, 34 (9). - С.3-5.

119. Тодоров И.Н. Стресс, старение и их биохимическая коррекция / И.Н. Тодоров, Г.И. Тодоров // М.: Наука, 2003. – С. 425 – 446.

120. Трудолюбова М. Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных / М. Г. Трудолюбова // Современные методы в биохимии под ред. проф. Ореховича В.Н. М.: Медицина. – 1977. – 392 с.

121. Фитоэкистероиды / под ред. В. В. Володина. - Санкт-Петербург: Наука, 2003. – 293 с.

122. Хаитов Р.М. Методические рекомендации по оценке иммунотоксического действия лекарственных средств / Р.М. Хаитов, А.С. Иванова, Л.П. Коваленко, А.Д. Дурнев, А.Н. Миронов, Е.В. Арзамасцев, Т.Б. Мастернак,

О.Н. Стеценко, Р.И. Атауллаханов, Т.А. Гуськова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. - Москва. – 2012. – С. 73.

123. Хайдав Ц. Лекарственные растения в монгольской медицине / Ц. Хайдав, Т.А. Меньшикова. –Улан-Удэ. - 1978. – 191 с.

124. Хныченко Л.К. Стресс и его роль в развитии патологических процессов / Л.К. Хныченко, Н.С. Сапронов // Обзоры по клин. фармакологии и лек. терапии. – 2003. – Т. 2. – № 3. – С. 2–15.

125. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабор. дело. – 1985. – № 11. – С. 678 – 681.

126. Чеснокова Н.П. Инфекционный процесс / Н.П. Чеснокова, А.В. Михайлов, В.В. Моррисон, Г.Е. Бриль // Изд-во Академия естествознания, М., 2006. – 484 с.

127. Шретер А.И. Поиск новых лекарственных растений из флоры советского Дальнего Востока /А.И. Шретер //Изучение и использование лекарственных растительных ресурсов СССР. –Л., 1964. –С. 191 – 194.

128. Шретер А.И. Лекарственная флора советского Дальнего Востока /А.И. Шретер. –М., 1975. -328 с.

129. Юдаев Н.А. Гормоны гипоталамуса / Н.А. Юдаев, З.Ф. Утешева // Биохимия гормонов и гормональной регуляции. – М.: Наука, 1976. – С. 10 – 44.

130. Юматов Е.А. Сравнительный анализ устойчивости функций сердечно-сосудистой системы у крыс разных линий при иммобилизации / Е.А. Юматов, Ю.Г. Скоцеляс //Журн. высшей нервн. деят. – 1979. – № 2. – С. 345-350.

131. Яременко К.В. Адаптогены как средства профилактической медицины / К.В. Яременко // Томск: изд-во Томск. Ун-та, 1990. – 94 с.

132. Яременко К.В. Злокачественные опухоли. Лечение и лекарственная профилактика / К.В. Яременко, В.Г. Пашинский. - СПб. - 2003. – 168 с.

133. Яременко К.В. Природные средства против рака / К.В. Яременко // СПб. - 2007. – 111 с.
134. Яременко К.В. Адаптогены в фитотерапии / К.В. Яременко // I Рос. фитотерапевт. съезд: Сб. науч. тр. – М., 2008. – С. 363–364.
135. Asea A. Evaluation of Molecular chaperons Hsp72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts / A. Asea, P. Kaur, A. Panossian, K. G. Wikman // *Phytomedicine*. – 2013. - №20. – P. 1323 – 1329.
136. Akar F.G. The mitochondrial origin of postischemic arrhythmias. / F.G. Akar, M.A. Aon, G.F. Tomaselli, B. O'Rourke // *Journal of Clinical Investigations*. – 2005. – Vol. 115. – P. 3527–3535.
137. Anderson R.L. Nonoliguric acute renal failure / R.L. Anderson, S.L. Linas, A.S. Berns // *N. Engl. J. Med.* – 1977. – Vol. 236. – P. 1134.
138. Anderson M.E. Glutathion: chemical, biochemical and medicinal aspects / M.E. Anderson/ *Pt. Ann. - N.Y.* – 1989. – P. 333-405.
139. Asea A. Evaluation of molecular chaperons Hsp72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts / Asea A., P. Kaur, Panossian A., K.G. Wikman // *Phytomedicine*. – 2013. – N 20. –P. 1323–1329.
140. Avakian E.V. Effect of Panax ginseng on energy metabolism during exercise in rats / E.V. Avakian // *Planta medica*. -1984. –Vol.50. –P.151-154.
141. Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding / M.M. Bradford // *Anal. Biochem.* - 1976. - Vol. 72. - P. 248-254.
142. Brekhman I.I. The mechanism of action of ginseng and eleutherococcus preparations / I.I. Brekhman, I.V. Dardimov // *Intern. Symp. on Traditional medicine and modern pharmacology: Abstracts.* - Beijing – 1986. – P. 40.
143. Bunn H.F. Oxygen sensing and adaptation to hypoxia / H.F. Bunn, R.O. Poyton // *Physiol. Rev.* - 1996. - Vol. 76. - P. 839-885.

144. Carrasco G.A. Neuroendocrine pharmacology of stress / G.A. Carrasco, L.D. Van de Kar // *European journal of pharmacology* 2003. – Vol. 463. – N. 1-3. – P. 235-272.
145. Chen A.-S. Antioxidant activities of chitibiose and chititriose / A.-S. Chen, T. Taguchi, K. Sakai, K. Kikuchi, M.-W. Wang, I. Miwa // *Biol. Pharm. Bull.* – 2003. – Vol. 26 (9). – P.1326-1330.
146. Cheng J. Studies on structure of ecdysterones from *Rhaponticum uniflorum* / J. Cheng, Y.H. Zhang, Z.Y. Zhang, D.-L. Cheng, G.-L. Zhang // *Chem. Abstrs.* – 2002. - Vol. 23, N. 11. - P. 2084-2088;
147. Cheng J.. New ecdysterone from *Rhaponticum uniflorum* / J. Cheng, M. Huang, Z. Zhang, D. Cheng, G. Zhang // *Chem. Abstrs.* - 2005. - Vol. 142, N 6. - P. 1457-1459.
148. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells / A.J. Cunningham // *Nature*. 1965. V. 207, № 5001. P. 1106 – 1107.
149. De Kloet, E.R. Hormones and the stressed brain / E.R. De Kloet // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2004. – Vol. 1018. – P. 1–15.
150. Deng G. A new ecdyson hormone, rhaponticum (loulusujia) from *Rhaponticum uniflorum* / Deng G., Wei S., Wei H. // *Chem. Abstrs.* - 2001. - Vol. 134, N 97847. – P. 1123-1134.
151. Dinan, L. Ecdysteroid structure-activity relationships / L. Dinan // *Studies in Natural Products Chemistry.* – 2003. – Vol. 29. – P. 3-7.
152. Bandara B.M.R. Ecdysterone from stem of *Diploclisia glaucescens* / B.M.R. Bandara // *Phytochemistry.* – 1989. – Vol. 28(4). – P. 1073-1075.
153. Esterbauer H. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL / H. Esterbauer, J. Gebicki, H. Puhl, G. Jurgens // *Free Radic. Biol. Med.* -1992. – Vol. 13. – P.341-390.
154. Feng S. Determination methods of baicalin in membranous milkvetch (*Astragalus membranaceus*) and its preparations / S. Feng, W. Qiao // *Zhongcaoyao.* – 1995. - Vol. 26. - № 7. - P. 381-383.

155. Frei B. Natural antioxidants in human health and disease / B. Frei //Orlando, FL: Academic Press. – 1993.
156. Fulder S. The growth of cultured human fibroblasts treated with hydrocortisone and extracts of medicinal plant *Panax ginseng* / S. Fulder //Experimental gerontology. -1977. –Vol.12. –P.125-131.
157. Gorelick-Feldman J. Ecdisteroids elicit a rapid Ca (2+) flux leading to Act activation and increased protein synthesis in skeletal muscle cells / J. Gorelick-Feldman, W. Cohick // Steroids. - 2010. –Vol. 75, N 10. – P.632 – 637.
158. Govindarajan R. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum* / R. Govindarajan, S. Rastogi, M. Vijayakumar // Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 2003. – V. 26. – P. 1424-1427.
159. Grand N., Adrenal cortex /N. Grand //Ed. A. B. Eisenstein. Boston. – 1967. – P. 129 – 141.
160. Guo D.A. Phytoecdysteroids of *Rhaponticum uniflorum* root / D.A. Guo, Z.C. Lou, C.Y. Gao, L. Qiao, J.R. Peng // Yao Xue Xue Bao. - 1991.- Vol. 26, N 6. - P. 442-446.
161. Gupta S. A new mitogen and interferon inducer / S. Gupta // Clinical research. -1980. –Vol.28. –P.504.
162. Huneck S., Knapp H.D. Inhaltsstoffe weiterer Compositen aus der Mongolei // Pharmazie. Jahrg. – 1986. - № 41, H. 9. - P. 673.
163. Kholodova Iu. D. Effect of vitamin D3 and 20-hydroxyecdysone on the content of ATP, creatine phosphate, carnosine and Ca²⁺ in skeletal muscles / Iu. D. Kholodova, V. A. Tugai, V. P. Zimina // Ukr. Biokhim. Zh. – 1997. – Vol. 69(3). – P. 3-9.
164. Kucharova S. Hormone nuclear receptors and their ligands: role in programmed cell death / S. Kucharova, R. Farkas // Endocr. Regul. - 2002. - Vol.36, №1. - P.37-60.
165. Lafont R. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update / R. Lafont, L. Dinan // Journal of Insect Science. – 2003. – Vol. 3(7). – P. 30-37.

166. Lafont R. Recent progress in ecdysteroid pharmacology /R. Lafont //Теоретическая и прикладная экология. – 2012. -№ 1. – С. 6 – 12.
167. Levi L. Psychosocial stimuli psychophysiological reactions and disease // Acta med. Scand. – 1972. – Entire Suppl. 528.
168. Li F.S. Effects of *Rhaponticum uniflorum* polysaccharide on immune response of mice after antigen stimulation and their possible mechanisms / F.S. Li, G. Yang, F. Xian, H. Liu // Chem. Abstrs. - 2007.- Vol. 32, N 5. - P. 433-435.
169. Li X. Phytoecdysterones from *Rhaponticum uniflorum* / X. Li, J. Wang, S. Wang, X. Li // Chem. Abstrs. - 1999. - Vol. 8, N 3. - P. 199-200.
1. Li X. A new phytoecdysone from the roots of *Rhaponticum uniflorum* / X. Li, J.-H. Wang, S.-X. Wang, X. Li // J. Asian Nat. Prod. Res. - 2000a. - Vol. 2, N 3. - P. 225-229.
170. Li X. Phytoecdysones of *Rhaponticum uniflorum* / X. Li, J. Wang, S. Wang, X. Li // Chem. Abstrs. - 2001. - Vol. 17, N 4. P. 260-262.
171. Li Y.T. 7- Chloroarctinone as a new selective PPAR γ antagonist potently blocks adipocyte differentiation / Y.T. Li, L. Li, J. Chen, T.C. Hu, J. Huang, Y.W. Guo, H.L. Jiang, X. Shen // Acta Pharmacol. Sin. - 2009. - Vol. 30, N 9. - P. 1351-1358.
172. Li Z. Tumor rejection antigen gp96/grp94 is an ATPase: implications for protein folding and antigen presentation / Z. Li, P.K. Srivastava // EMBO J. – 1993. – № 12. –P. 3143–51.
173. Liu B. Isolation and identification of diosbulbin-B in the aqueous extraction of *Rhaponticum uniflorum* / B. Liu, R. Shi, G Tu, W. Wang, C. Yang // Chem. Abstrs. - 2005. - Vol. 27, N 6. - P. 58-60.
174. Liu H.-L. Three new thiophene acetylenes from *Rhaponticum uniflorum* (L) DC. / H.-L. Liu, Y.-W. Guo // Helv. Chim. Acta. - 2008. - Vol. 91, N 1. - P. 130-135.
175. Marnett, L.J. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde / L.J. Marnett // Mutat. Res. – 1999. - Vol. 424. – P. 83–95.

176. Miliauskas G. Identification of radical scavenging compounds in *Rhaponticum carthamoides* by means of LC-DAD-SPE-NMR // G. Miliauskas, T.A. Beek, P. Waard // *J. Nat Prod.* - 2005, 68(2). - P. 168-172.

177. Miyata Y. The 90 kDa heat shock protein Hsp90 binds and protects casein kinase II from self-aggregation and enhances its kinase activity. / Y. Miyata, I. Yahara // *J. Biol. Chem.* – 1992. – Vol. 72. –P. 67- 70.

178. Mosser D. D. Role of the human heat shock protein hsp70 in protection against stress-induced apoptosis. / D. D. Mosser, A. W. Caron, L. Bourget // *Mol. Cell. Biol.* – 1997. – 17 5317–27.

179. Nakagawa S. Cytoprotective activity of components of garlic, ginseng and ciwujia on hepatocyte injury induced by carbon tetrachloride in vitro / S. Nakagawa // *Hiroshima journal of medical science.* -1985. –Vol.34. –p.303-309.

180. Overmier J. The ulcerogenic effect of a rest period after exposure to water-restraint stress / J. Overmier, R. Murison, H. Ursin // *Behav. Neural. Biol.* – 1986. – Vol. 46. – P. 372–386.

181. Panossian A. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action / A. Panossian, G. Wikman, H. Wagner // *Phyto-medicine.* – 1999. - Vol. 6 (4). - P. 287-300.

182. Panossian A. Stimulating effect of adaptogens: an overview with particular reference to their efficacy following single dose administration / A. Panossian, H. Wagner // *Phytother. Res.* – 2005. – Vol. 19, N 10. – P. 819-838.

183. Panossian A. Adaptogens exert a stress-protective effect by modulation of expression of molecular chaperones / A. Panossian, G. Wikman, P. Kaur, A. Asea // *Phyto-medicine.* - 2009. - N 16. - P. 617-622.

184. Panossian A. Effects of adaptogens on the central nervous system and the molecular mechanisms associated with their stress-protective activity / A. Panossian, G. Wikman // *Pharmaceuticals.* - 2010. - N 3. –P. 188-224.

185. Panossian A.G., Adaptogens in mental and behavioral disorders / A.G. Panossian // *Psychiatric Clinics Of North America.* – 2013. – Vol. 36, N.1. – P. 49 – 64.

186. Raskin I. Phytoecdysteroids – Understanding their Anabolic Activity. Abstract of the dissertation PhD / I. Raskin // New Brunswick, New Jersey. - 2009.
187. Samways D.S.K. Opioid elevation of intracellular free calcium: possible mechanisms and physiological relevance / D.S.K. Samways, G. Henderson // *Cell Signal.* - 2006. – Vol. 18, N 2. – P. 151–161.
188. Santoro M.G. Heat shock factors and the control of the stress response/ M.G. Santoro // *Biochemical pharmacology.* – 2000. – Vol. 59 (1). – P. 55–63.
189. Schriener S.E. Protection of human cultured cells against oxidative stress by *Rhodiola rosea* without activation of antioxidant defenses / S.E. Schriener, A. Avanesian, M. Jafari, Y. Liu, H. Luesch // *Free radical biology & medicine.* - 2009. – Vol. 47, № 5. – P. 577-584.
190. Seifter S. The estimation of Glycogen with the Antron Reagent / S. Seifter // *Arch. Biochem.* – 1950. – Vol. 25. – P. 191-200.
191. Seyoum A. Structure-radical scavenging relationships of flavonoids / A. Seyoum, K. Asres, F.K. El-Fiky // *Phytochemistry.* – 2006. – Vol. 67. – N 18. – P. 2058-2070.
192. Singh, B. Evaluation of Geriforte, an herbal geriatric tonic, on antioxidant defense system in Wistar rats / B. Singh, S.P. Sharma, R. Goyal // *Ann. NY Acad. Sci.* – 1994. - Vol. 717. – P. 170-173.
193. Slama K. Insect hormones in vertebrates: anabolic effects of 20-hydroxyecdysone in Japanese quail / K. Slama, K. Koudela, J. Tenora, A. Matliova // *Experientia.* – 1996. – Vol. 52 (7). – P. 702-706.
194. Smith E. L. Principles of biochemistry: Mammalian biochemistry / E. L. Smith, R. L. Hill, I.R. Lehman. // 7th ed N. Y.: Mc Graw-Hill. – 1983. – P. 355 – 619.
195. Sonnenborn U. Ginseng-Nebenwirkungen: Fakten oder Vermutungen? / U. Sonnenborn // *Medizinische Monatsschrift für Pharmazeuten.* -1989, -Vol.12. – P.46-53.

196. Sonnenborn U., Proppert Y. Ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) / U. Sonnenborn, Y. Proppert // *British journal of phytotherapy*. -1991. –Vol.2. – P.3-14.
197. Song R.M. Isolation of two phytoecdysones from *Rhaponticum uniflorum* / R.M. Song, S.Y. Sik // *Chem. Abstrs.* - 2005. - Vol. 1, N 5. - P. 50-52.
198. Stadtman, E. R. Role of oxidant species in aging / E.R. Stadtman // *Curr. Med. Chem.* – 2004. - Vol. 11. – P. 1105–1112.
199. Takahashi H. Antidiabetic agents containing ecdysterone or inokosterone / H. Takahashi, N. Nishimoto // *J. Patent.* – 1992. – № 4. – P. 125-135.
200. Takeda A. Restoration of radiation injury by ginseng. I. Responses of X-irradiated mice to ginseng extracts / A. Takeda, M. Yonezawa, N. Katoh // *Journal of radiation research*. -1981. –Vol. 22. – P.323-335.
201. Tuganova A.V. The in vitro interaction of C27-steroids with the erythrocyte membranes depends on the sterol structure and concentration / A.V. Tuganova, A.V. Kotsyuruba // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 1996. – Vol. 1. – P. 129-135.
202. Uchiyama M. Effect of ecdysterone on carbohydrate and lipid metabolism / M. Uchiyama, T. Yoshida // *Invertebrate Endocrinology and Hormonal Heterophyly*. – Berlin, Springer-Verlag. - 1974. – P.401-416.
203. Valko M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer / M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur // *Chem. Biol. Interact.* - 2006. – Vol. 160 . - P. 1–40.
204. Vlaskovska M. Opioid effects on $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake and glutamate release in rat cerebral cortex in primary culture / M. Vlaskovska, M. Schramm, I. Nylander // *et al. //J. Neurochem.* – 1997. – Vol. 68, N 2. – P. 571–577.
205. Wagner S. Redox regulation of sodium and calcium handling / S. Wagner, A.G. Rokita, M.E. Anderson, L.S. Maier // *Antioxid Redox Signal.* – 2013. – Vol. 18, N 9. – P. 1063-1077.
206. Wang H. Analysis of volatile components from the roots of *Rhaponticum uniflorum* and its application in cigarette // *Yunnan Huangong*. - 2008. - Vol. 35, N 6. - P. 62-65.

207. Wang X. Studies on chemical constituents of *Rhaponticum uniflorum* / X. Wang, X. Ding, K. Wu, J. Lan // Chem. Abstrs. - 2000. - Vol. 136, N 7. - P. 590-598.
208. Wei H. X. New eudesmane and thiophene derivatives from the roots of *Rhaponticum uniflorum* / H.X. Wei, W.Y. Gao, W.X. Wei, Y.J. Tian, Y.K. Guan, M.H. Huang, D.L. Cheng // Pharmazie. - 1997. - Vol. 52, N. 3. - P. 245-247.
209. Wiegant F.A. Plant adaptogens increase lifespan and stress resistance in *C. elegans* / F.A. Wiegant, S. Surinova, E. Ytsma // Biogerontology. -2009. –N10. – P. 27-42.
210. Wilson L.D. Review of adaptogenic mechanisms: Eleutherooccus senticosus, Panax ginseng, Rhodiola rosea, Schisandra chinensis and Withania somnifera / L.D. Wilson // Australian journal of medical herbalism. – 2007. – Vol.19, №3. – P. 126-138.
211. Yusuf J. Disturbances in calcium metabolism and cardiomyocyte necrosis: the role of calcitropic hormones / J. Yusuf, M.U. Khan, Y. Cheema, S.K. Bhattacharya, K.T. Weber // Prog. Cardiovasc. Dis. - 2012.- Vol. 55, N 1. – P. 77-86.
212. Zhang Y.H. Ecdysteroids from *Rhaponticum uniflorum* / Y.H. Zhang, H.Q. Wang // Pharmazie. - 2000. - Vol. 56, N 10. - P. 828-829.
213. Zhang Y. A new ecdysteroid from *Rhaponticum uniflorum* / Y. Zhang, X.P. Li, Z.G. Lu, H.Q. Wang // Chin. Chem. Lett. - 2001a. - Vol. 12, N 9. - P. 797-798.
214. Zhang Y. Triterpenes and other constituents from *Rhaponticum uniflorum* / Y. Zhang, W. Wang, T. Wang, H. Wang // J. Chin. Pharm. Sci. - 2001b. - Vol. 10, N 3. - P. 113-114.
215. Zhang Y. Triterpenoids from *Rhaponticum uniflorum* / Y. Zhang, J.-K. Cheng, Y. Li, D.-L. Cheng // J. Chin. Chem. Soc. - 2002a. - Vol. 49, N 1. - P. 117-124.
216. Zhang Y. New triterpenoid saponin from *Rhaponticum uniflorum*: A new triterpenoid saponin, namely unifloroside together with five known compounds,

was isolated from *Rhaponticum uniflorum* DC. / Y. Zhang, Z. Lu, X. Li, H. Wang // Chem Abstrs. - 2002b. - Vol. 44, N 3. - P. 359-361.

217. Zhahg Y. Triterpenes from root of *Rhaponticum uniflorum* / Y. Zhang, J.G. Zhahg, J.M. Xie, G.L. Chen, D.L. Cheng // Chem. Abstrs. - 2007. - Vol. 147, N 23. - P. 1833-1836.

218. Zhang Y. Two new triterpenoid saponins from *Rhaponticum uniflorum* / Y. Zhang, Y. Wu, L. Yang, Z.L. Liu, L. Zhong, D. Cheng // Chin. Chem. Lett. - 2009. - Vol. 20, N 6. - P. 690-693.

219. Zhang X.-P. Chemical constituents of plants from the genus *Rhaponticum* / X.-P. Zhang, J. Zhang, M. Dong, M.-L. Zhang, C.-H. Huo, Q.-W. Shi, Y.-C. Gu // Chem. Biodivers. - 2010. - Vol. 7, N. 3. - P. 594-609.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Сердечно благодарю за неоценимую помощь в написании диссертационной работы Ларису Николаевну Шантанову, Сергея Матвеевича Николаева, Александра Гавриловича Мондодоева, Валентину Бимбаевну Хобракову, Даниила Николаевича Оленникова, Сергея Васильевича Лемза, Анюту Алексеевну Торопову, Янину Геннадьевну Разуваеву, Нину Игоревну Кащенко, Сергея Мироновича Гуляева, а также Любовь Васильевну и коллег-аспирантов.