

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования Первый Московский государственный
медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский университет)

На правах рукописи

КАКОРИН ПАВЕЛ АЛЕКСЕЕВИЧ

**ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
*CARAGANA JUBATA***

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор фармацевтических наук, профессор
Раменская Галина Владиславовна

Научный консультант:
академик РАН, доктор медицинских наук, профессор
Кукес Владимир Григорьевич

Москва, 2018 г.

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Этиология и патогенез контактного дерматита	12
1.2. Особенности фармакотерапии контактного дерматита	16
1.3. Общая характеристика растений рода <i>Caragana</i> Lam.	22
1.4. Характеристика растения <i>Caragana jubata</i> (Pall.) Poir.	24
1.5. Потенциальная фармакологическая активность <i>Caragana jubata</i> (Pall.) Poir.	26
1.6. Биологически активные вещества <i>Caragana jubata</i> (Pall.) Poir.....	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	35
2.1. Объект исследования	35
2.2. Методы исследования химического состава (полифенольных соединений) и антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.....	37
2.2.1. Анализ флавоноидов методом ВЭЖХ с диодно-матричным спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием.....	37
2.2.2. Исследование антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой методом активированной хемилюминесценции АБАП <i>in vitro</i>	40
2.3. Лабораторные животные	41
2.4. Методы статистической обработки результатов	41
2.5. Методы токсикологического исследования лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.....	42
2.5.1. Определение острой токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.....	42
2.5.2. Определение острой кожной токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.....	43
2.6. Методы исследования дерматотропной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой	45

2.6.1. Исследование противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при накожном применении на модели контактного дерматита.....	45
2.6.2. Исследование противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при пероральном применении на модели контактного дерматита.....	49
2.6.3. Исследование ранозаживляющей активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели линейной раны	52
2.6.4. Исследование капилляропротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели ксилоловых петехий.....	55
2.7. Методы исследования гепатопротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом.....	56
2.7.1. Исследование антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой методом активированной хемилюминесценции АБАП в гомогенатах печени крыс, пораженных острым гепатитом.....	58
2.8. Методы исследования гипополипидемической активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели экспериментальной гиперлипидемии	59
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ <i>IN VITRO</i>	61
3.1. Результаты исследования флавоноидов в лиофилизированном водном извлечении караганы гривастой методом ВЭЖХ с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием	61
3.2. Результаты исследования антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой методом активированной хемилюминесценции АБАП <i>in vitro</i>	71
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ	74
4.1. Токсикологические исследования лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.....	74
4.1.1. Результаты исследования острой токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой	74

4.1.2. Результаты исследования острой накожной токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.	75
4.2. Исследование дерматотропной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.....	75
4.2.1. Результаты исследования противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при накожном применении на модели контактного дерматита	75
4.2.2. Результаты исследования противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при пероральном применении на модели контактного дерматита	84
4.2.3. Результаты исследования ранозаживляющей активности лиофили-зированной водного извлечения караганы гривастой на модели линейной раны	92
4.2.4. Результаты исследования капилляропротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели ксилоловых петехий	96
4.3. Результаты исследования гепатопротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом.....	97
4.4. Результаты исследования антиоксидантной активности лиофили- зированной водного извлечения караганы гривастой методом активированной хемилюминесценции АБАП в гомогенатах печени крыс, пораженных острым гепатитом.....	101
4.5. Результаты исследования гиполипидемической активности лиофи- лизированного водного извлечения караганы гривастой на модели экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной Твин-80.....	102
ГЛАВА 5. Обсуждение результатов.....	104
ВЫВОДЫ	109
Научно-практические рекомендации	111
Список используемых сокращений.....	112
Список литературы	113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Современное состояние фармакотерапии сопровождается во всем мире новым витком в развитии лекарственных средств природного происхождения, основную долю которых составляют препараты растительного происхождения. В нашей стране растительные лекарственные препараты по-прежнему представляют собой значительную часть номенклатуры лекарственных средств, и их востребованность не потеряла своей актуальности. В настоящее время в медицинской практике России возрастает интерес к фитотерапии, в частности, к народной медицине.

Фитопрепараты обладают широким спектром фармакологического действия и успешно применяются в профилактике и комплексной терапии. Растительные препараты обладают рядом отличий от синтетических препаратов: основное фармакологическое действие определяется составом биологически активных веществ, имеется широкий спектр терапевтического действия, эффект фитопрепарата зависит от технологии его получения [Кукес В.Г., 2013]. Однако современный уровень доклинических и клинических исследований растительных препаратов свидетельствует о том, что они имеют серьезные ограничения в применении [WHO guidelines on safety monitoring of herbal medicines in pharmacovigilance systems – Geneva, 2004; Лесиовская Е.Е., 2003; Филиппова И.И., 2016; Терёшкина О.И., 2015].

Лекарственные растения, применяемые в этномедицине, остаются перспективными объектами для изучения их эффективности для внедрения в официальную клиническую практику [Малинка В., Жданова Е., 2000]. Большой интерес представляют средства из лекарственного растительного сырья, используемые при хронических и острых формах различных заболеваний,

поскольку они, как правило, не вызывают побочных реакций даже при длительном систематическом применении [Сёмкина О. А., 2005].

Использование ценных дикорастущих растений как источника сырья для фитопрепаратов является исторически сложившимся направлением в нашей стране и современным перспективным направлением, способствующим расширению сырьевой базы производства отечественной фармацевтической продукции [Шелепова О. В., 2015; Сёмкина О. А., 2005; Чиндяева Л. Н., 2016].

Целью исследования диссертационной работы являлось изучение фармакологической активности лиофилизированного водного извлечения *Caragana jubata* (Pall.) Poir. (карагана гривастая).

Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

1. Установить основную группу биологически активных веществ лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой для определения ее основной фармакологической активности.

2. Исследовать антиоксидантную активность водного извлечения караганы гривастой *in vitro*.

3. Исследовать острую токсичность лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при пероральном и накожном применении.

4. Изучить дерматотропную активность лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой:

- исследовать противовоспалительную активность при накожном и пероральном применении на модели контактного дерматита;

- исследовать ранозаживляющую активность при накожном применении на модели линейных ран;

- исследовать капилляропротекторную активность при пероральном применении на модели ксилоловых петехий.

5. Изучить другие фармакологические свойства лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой:

- исследовать гепатопротекторную активность на модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом;

- исследовать гиполипидемическую активность.

Научная новизна работы

Исследование фармакологической активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой было проведено впервые. В ходе исследования была установлена выраженная противовоспалительная, капилляропротекторная и ранозаживляющая, гепатопротекторная, антиоксидантная и гиполипидемическая активность лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой.

Методология и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами были использованы современные информативные подходы. Объектами исследования являлись белые беспородные мыши-самцы и белые крысы-самцы линии Wistar. Изучение токсикологических и фармакологических свойств лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой проводилось согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению лекарственных средств (А.Н. Миронов, 2012) с использованием соответствующих методов статистической обработки данных.

Теретическая и практическая значимость работы

Было экспериментально обосновано, что лиофилизированное водное извлечение *Caragana jubata* (Pall.) Poir. обладает фармакологической активностью. Полученные результаты показывают целесообразность дальнейшего исследования караганы гривастой в разнообразных готовых лекарственных формах.

Связь темы диссертационной работы с планом научных работ учреждения

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) «Развитие научных и научно-методических основ, базовых и инновационных подходов при разработке, внедрении и применении лекарственных средств» № 01201261653.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Основными биологически активными веществами лиофилизированного извлечения караганы гривастой являются полифенольные соединения (флавоноиды).
2. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает антиоксидантной активностью.
3. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой при пероральном и наружном применении не обладает токсичностью.
4. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает противовоспалительной, ранозаживляющей и капилляропротекторной активностью.
5. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает гепатопротекторной активностью.

6. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает гипополидеммической активностью.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование Какорина П.А., включающее вопросы изучения фармакологической активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой, соответствует паспорту специальности 14.03.06 – «Фармакология, клиническая фармакология» и областям исследований по следующим пунктам: п.1 – поиск новых биологически активных фармакологических веществ среди природных и впервые синтезированных соединений, продуктов биотехнологии, генной инженерии и других современных технологий на экспериментальных моделях патологических состояний; п.3 – исследование механизмов действия фармакологических веществ в экспериментах на животных, на изолированных органах и тканях, а также на культурах клеток; п.5 – экспериментальное (доклиническое) изучение безопасности фармакологических веществ – токсикологические исследования, включающие изучение токсичности потенциальных лекарственных препаратов и их готовых лекарственных форм в условиях острых и хронических экспериментов на животных, а также оценку возможных специфических видов токсичности и проявление нежелательных побочных эффектов (мутагенность, эмбриотоксичность, тератогенность, влияние на репродуктивную функцию, аллергизирующее действие, иммунотоксичность и канцерогенность). Область наук данной диссертации – медицинские науки.

Внедрение результатов в практику

Данные, полученные в результате химического анализа, также могут быть использованы для подготовки фармакопейной статьи на сырье. Материалы проведенной экспериментальной работы используются в учебном процессе на кафедрах фармакологии, фармацевтической и токсикологической

химии им. А.П. Арзамасцева Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет).

Степень достоверности и апробация результатов

Основные результаты исследования были представлены на III научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 2015 г.), VI научно-практической конференции «Актуальные проблемы оценки безопасности лекарственных средств» (Москва, 2015 г.), всероссийской конференции студентов и молодых ученых с международным участием в рамках «Дней молодежной медицинской науки» (Оренбург, 2015 г.), международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы фармации и медицины» (Казахстан, 2015 г.), XIV научной конференции молодых ученых и специалистов с международным участием (Владикавказ, 2015 г.), IV научно-практической конференции «Беликовские чтения» (Пятигорск, 2015 г.), IV научно-практической конференции «Современные аспекты использования растительного сырья природного происхождения в медицине» (Москва, 2016 г.), VI научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ» (Воронеж, 2016 г.), научно-практической конференции «Лекарственные растения ботанического сада» (Москва, 2016), IV научно-практической конференции «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Казахстан, 2016), VIII научно-практической конференции «Актуальные проблемы оценки безопасности лекарственных средств» (Москва, 2017 г.), всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы фармацевтической деятельности» (Казань, 2017), V научно-практической конференции «Перспективы развития биологии, медицины и фармации» (Казахстан, 2017), VII научно-практической конференции «Беликовские чтения» (Пятигорск, 2017 г.).

Личный вклад автора

Автор провел анализ современной отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы. Автором самостоятельно выполнена экспериментальная часть исследования. При активном участии автора были проведены фармакологические исследования лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой (*Caragana jubata* (Pall.) Poir.) на экспериментальных животных. Также автором выполнена статистическая обработка, описание и обсуждение полученных результатов, сформулированы выводы и научно-практические рекомендации.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 10 работ, из них 4 (3 оригинальные и 1 обзорная) статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для публикации научных результатов диссертаций и рецензируемых в базах данных Scopus и Web of science.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 137 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, научно-практических рекомендаций и списка литературы, включающего 192 отечественных и 41 зарубежных источников. Работа содержит 23 таблицы и 34 рисунка.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Этиология и патогенез контактного дерматита

Высокие темпы развития промышленности, а также новые методы и технологии с использованием химических веществ существенно увеличивают вредное воздействие на наш организм, в частности, на кожу. Различные материалы, применяемые в строительной индустрии, косметическом производстве, фармации и медицине, бытовой химии зачастую являются основной причиной развития воспалительных заболеваний кожи, в частности, аллергического и простого контактного дерматита. Поэтому лечение и профилактика контактных дерматитов является актуальной задачей современной дерматологии [Дюжакова Е.С., 2013; Кочергин Н.Г., 2014; Кузина З.А, Анисимова Л.А., 2014.]

На сегодняшний день контактный дерматит является широко распространенным заболеванием. По различным данным, простым контактным дерматитом страдают около 5–10% населения Земли [Скрипкин Ю. Н., Бутов Ю. С., 2013; Хаитов Р.М., 2009], причем доля заболеваемости простым контактным дерматитом выше, чем аллергическим [Диковицкая И. Г., Корсунская И. М., 2010]. Согласно данным общества ACDS (American Contact Dermatitis Society), контактные дерматиты составляют 27% всех дерматозов [Перламутров Ю.Н., Ольховская К.Б., 2009]

По этиологии контактный дерматит разделяют на простой и аллергический [Панкратова В.Г., 2008; Иванов О. Л., Потакаев Н. С., 2006].

Простой контактный дерматит – воспалительное заболевание кожи, обусловленное непосредственным воздействием на нее сенсибилизирующих и раздражающих *факультативных* или *облигатных* факторов химической, физической или биологической природы [Барабанов А.Л., Панкратов В.Г., 2004]. *Облигатные раздражители* представлены физическими агентами

(трение, ожоги, обморожения, инфракрасное излучение, электрический ток), химическими агентами (кислоты, щелочи, высокая концентрация дезинфицирующих средств и др.) и биологическими агентами (ядовитые растения) [Иванов О.Л., 2006; Чеботарев В.В., Тамразова О. Б., 2013; Круглова Л. С., Жукова О. В., 2016]. *Факультативные раздражители* вызывают реакцию у тех, кто обладает повышенной чувствительностью к определенному раздражителю [Вельтищев Ю. В., Комаров Ф. И., 1998], и развиваются после повторных воздействий на кожу через определенный латентный период (*моновалентная сенсibilизация*) [Панкратова В.Г., 2008; Белоусова Т. А., Горячкина М. В., 2011].

При *простом контактном дерматите* воспалительная реакция возникает строго по месту воздействия и соответствует границам воздействия раздражителя. Выраженность воспалительного процесса зависит от силы раздражителя, времени воздействия и свойств кожи, а также от той или иной локализации. Простой дерматит разделяют на три стадии: эритематозную, везикуло-буллезную и некротическую. Дерматиты, вызванные воздействием УФ- или ИФ-излучения, называются фотодерматозами. Длительное воздействие раздражителя небольшой силы может приводить к застойной эритеме и шелушению кожных покровов. Простой дерматит развивается без инкубационного периода и обычно протекает без нарушения общего состояния организма. Исключение представляют ожоги и обморожения большой площади и глубины [Соколовский Е. В., 2006; Кочергин Н.Г., 2014].

Аллергический контактный дерматит возникает в ответ на контактное воздействие на кожу факультативного раздражителя, к которому организм сенсibilизирован и по отношению к которому раздражитель является аллергеном (*моновалентная сенсibilизация*) [Иванов О. Л., Потакаев Н. С., 2006; Хаитов Р.М., 2009].

В основе аллергического контактного дерматита лежит аллергическая реакция замедленного типа. Аллергенами чаще всего выступают химические вещества (бытовая химия, инсектициды, хром, свинец), лекарственные и косметические средства [Караулов А. В., 2002; Феденко Е. С., 2004]. Аллергены часто являются гаптенами, образующими при соединении с белками кожи полный антиген. Важную роль в формировании контактной гиперчувствительности играют эпидермальные макрофаги. Уже в первые часы после контакта с аллергеном их количество в коже увеличивается. При этом аллерген оказывается связанным с макрофагами. Макрофаги представляют аллерген Т-лимфоцитам, в ответ на это происходит пролиферация Т-лимфоцитов с формированием популяции клеток, специфических по отношению к данному антигену. При повторном контакте аллергена циркулирующие сенсibilизированные лимфоциты устремляются к очагу воздействия аллергена. Выделяемые лимфоцитами лимфокины привлекают к очагу макрофаги, лимфоциты, полиморфно-ядерные лейкоциты. Эти клетки также выделяют медиаторы, формируя воспалительную реакцию кожи. Таким образом, изменения кожи при аллергическом дерматите появляются при повторном нанесении аллергена в условиях сенсibilизации организма [Хаитов Р.М., 2013]. Клинические проявления аллергического дерматита сходны с острой стадией экземы: на месте воздействия аллергена образуется эритема с нечеткими границами, также формируется множество микровезикул, которые при вскрытии оставляют мокнущие микроэрозии, чешуйки, корочки. Часто из-за общей аллергической реакции организма аллергические проявления могут наблюдаться на значительном расстоянии от места воздействия. Процесс, как правило, сопровождается выраженным зудом. Диагноз аллергического дерматита ставится на основании анамнеза и клинической картины. Для подтверждения диагноза проводят постановку аллергических кожных проб с аллергеном. Пробы ставятся после ликвидации клинических изменений кожи [Frosch P. J., 1995; Calapai G. 2015]. Дифференциальный диагноз проводят с экземой, для которой характерны поливалентная, а не моновалентная сенсibilизация и

хроническое рецидивирующее течение, а также с токсидермией, при которой аллерген попадает внутрь организма [Иванов О. Л., Потакаев Н. С., 2006].

Также различают медикаментозные дерматиты, которые могут быть аллергическими (у медицинского персонала, работающего с антибактериальными препаратами и другими медикаментами) или простыми (воздействие на кожу лекарственных средств больших концентраций). Медикаментозный дерматит бывает фиксированным, когда поражение всегда возникает на одних и тех же участках: например, фиксированная эритема при приеме сульфаниламидных препаратов. Чаще всего медикаментозные дерматиты развиваются под воздействием пенициллина, стрептомицина и других антибактериальных препаратов. Патогенез медикаментозных токсидермий обычно включает в себя аллергический, токсический механизмы и их сочетание [Новиков Д. К., 2003]. Аллергический механизм токсидермий осуществляется через В- и Т-клеточные звенья иммунитета, вызванные сенсibilизацией и идиосинкразией [Чеботарев В.В., Тамразова О.Б., 2013]. Токсический механизм часто связан с побочным действием лекарств на кожу, приводящим к образованию аутоаллергенов. Мембраны клеток организма повреждаются, после чего происходит выброс биологически активных веществ: цитокинов, гистамина, ацетилхолина, ферментов и др. Иногда токсический эффект наступает при генетически обусловленном пониженном пороге переносимости лекарственного средства. Нарушаются фармакокинетические параметры (абсорбция, обмен и выведение лекарственных средств из организма). Длительный прием некоторых лекарств (препаратов серебра, золота, витаминов) приводит к их кумуляции. Передозировка препарата, истекший срок годности, нарушение правил хранения также могут быть причинами медикаментозной токсидермии [Федоскова Т. Г., Ильина Н. И., 2005; Чеботарев В.В., Тамразова О.Б., 2013].

1.2. Особенности фармакотерапии контактного дерматита

При медикаментозном лечении дерматитов обычно используются гормональные, антигистаминные и седативные средства. Принципы лечения аллергического дерматита обычно схожи с лечением простого контактного дерматита и заключаются в устранении аллергенов десенсибилизирующей терапией с применением системных антигистаминных препаратов и наружных средств (мазей и кремов, содержащих глюкокортикостероиды) [Лусс Л.В., 2009; Диковицкая И. Г., Корсунская И. М., 2010]. Лечение простого контактного дерматита обычно сводится к устранению раздражающего фактора, что обычно приводит к выздоровлению. При тяжелых случаях, сопровождающихся сильным зудом, назначают мази или кремы с кортикостероидами и антигистаминные препараты [Диковицкая И. Г., Корсунская И. М., 2010; Феденко Е. С., Елисютина О. Г., 2016].

Учитывая, что в основе патогенеза контактного дерматита лежит развитие воспалительной реакции, то для ее устранения чаще всего используют наружные глюкокортикостероидные препараты [Феденко Е. С., Елисютина О. Г., 2016]. Данные препараты при острых формах заболевания позволяют за небольшой промежуток времени добиться клинически значимого эффекта, а короткая продолжительность их применения, которая обычно не превышает 5–7 дней, обеспечивает их безопасное применение [Круглова Л.С., 2016]. Глюкокортикостероиды подавляют активность генов резидентных и мигрирующих клеток кожи, участвующих в воспалении, обеспечивая сильный противовоспалительный эффект при острых и хронических формах контактного дерматита. При сильном зуде, в особенности при хроническом течении заболевания, проявляющемся за счет опосредованного действия цитокинов и нейропептидов, назначают антигистаминные препараты [Перламутров Ю. Н., Ольховская К. Б., 2014]. При тяжелых случаях контактного дерматита, связанных с неэффективностью наружной терапии, применяются системные глюкокортикостероиды. Однако следует учесть, что длительная терапия как си-

стемными, так и наружными глюкокортикоидами может оказывать отрицательное влияние на кору надпочечников, угнетая выработку собственных гормонов [Борисова Е.О., 2004]. Среди системных побочных эффектов в основном выделяют ulcerогенное действие, стероидную зависимость, гипергликемию, остеопороз, артериальную гипертензию, нарушение липидного обмена, острый психоз, миопатию; среди местных проявлений выделяют атрофические процессы кожного покрова, телеангиэктазии, периоральный дерматит, гипертрихоз, присоединение вторичных бактериальных, грибковых и вирусных инфекций [Страчунский Л.С., Козловский С.Н., 1997; Кукес В.Г., 2013]. Поэтому ограничение длительного использования глюкокортикоидных препаратов вполне обосновано в современной клинической практике. Учитывая большой риск развития нежелательных реакций со стороны синтетических препаратов, на сегодняшний день подбор безопасной и эффективной вспомогательной фармакотерапии остается актуальным.

Фитотерапия является не менее эффективной при лечении дерматологических заболеваний в сочетании с другими способами фармакотерапии, используемых в дерматологии. Лекарственные препараты растительного происхождения особенно эффективны при хронических формах дерматозов при их длительном применении, т.к. риск возникновения побочных реакций существенно ниже в сравнении с синтетическими препаратами [Сёмкина О.А., 2005].

Современный фармацевтический рынок лекарственных средств растительного происхождения в основном представлен БАДами, доля зарегистрированных лекарственных средств существенно меньше. На сегодняшний день по данным Международного союза охраны природы (IUCN) описано около 320 тысяч видов растений, из них лишь небольшую часть (около 20 тысяч видов) составляют лекарственные растения. Для российского рынка лекарственных трав и сборов в настоящее время характерна тенденция роста, однако доля фармацевтических препаратов на рынке лекарственных средств

на сегодняшний день небольшая и составляет около 0,5–1,5% или 11–12 млн. долларов США [Смирнова И.П., Сёмкина О.А., 2016; Асемов А. Б., 2017].

Фитопрепараты для наружного применения представлены разнообразными лекарственными формами, в основном это мягкие лекарственные формы (мази, линименты, гели и др.). Лекарственные растительные препараты находят широкое применение в медицинской практике для лечения разнообразных заболеваний кожи и слизистых оболочек [Сёмкина О. А., 2005]. В зависимости от механизма действия фитопрепараты наружного применения подразделяются на противовоспалительные, антимикробные, фотосенсибилизирующие, регенеративные, противоожоговые, противогрибковые, обезболивающие, гемостатические и на средства для укрепления сосудов [Кабишев К.Э., 2005]. Особенности эффективности лекарственных растительных препаратов в дерматологии связаны с полиморфностью действия растительного сырья, с возможностью коррекции схемы лечения в зависимости от состояния пациента и его индивидуальной переносимости, с использованием малокомпонентных сборов. Большинство фитопрепаратов обычно нетоксичны, что позволяет длительно использовать их при хронических формах заболеваний [Терёшкина О. И., Раменская Г. В., 2014].

В табл. 1 представлены лекарственные растения, зарегистрированные на территории РФ и применяемые в дерматологической практике.

Лекарственные растения, используемые в дерматологии (ГРЛС, Федеральное руководство по использованию ЛС)

№	Лекарственное растение		Форма выпуска	Фармакологическое действие
1	Алоэ древовидное (листья)	<i>Aloe arborescens</i>	растительное измельченное сырье, сухой экстракт	противовоспалительное, ранозаживляющее, противоожоговое
2	Амми большая	<i>Ammi majus</i>	раствор для наружного применения, таблетки	фотосенсибилизирующее
3	Арника горная (цветки)	<i>Arnica montana</i>	мазь	противоожоговое, противовоспалительное, ранозаживляющее
4	Береза обыкновенная	<i>Betula pendula</i>	растительное измельченное сырье	противовоспалительное
5	Береза обыкновенная (деготь)	<i>Betula pendula</i>	раствор для наружного применения, линимент	антисептическое, ранозаживляющее, противовоспалительное, кератопластическое
6	Дуб черешчатый (кора)	<i>Quercus robur</i>	растительное измельченное сырье	противовоспалительное, вяжущее
7	Каланхоэ перистое	<i>Bryophyllum pinnatum</i>	растительное сырье, сухой экстракт, раствор для местного и наружного применения, раствор для применения внутрь, линимент	регенеративное, ранозаживляющее, противовоспалительное
8	Календула лекарственная (цветки)	<i>Calendula officinalis</i>	растительное измельченное сырье, настойка, порошок	противовоспалительное, антисептическое
9	Клещевина обыкновенная (масло семян)	<i>Ricinus communis</i>	линимент	противовоспалительное
10	Крапива двудомная	<i>Urtica dioica</i>	растительное измельченное сырье	гемостатическое, противовоспалительное
11	Кровохлебка лекарственная (корни, корневища)	<i>Sanguisorba officinalis</i>	растительное измельченное сырье	противовоспалительное, вяжущее, антисептическое

№	Лекарственное растение		Форма выпуска	Фармакологическое действие
12	Лопух большой (корни)	<i>Arctium lappa</i>	растительное измельченное сырье	противовоспалительное, ранозаживляющее
13	Облепиха крушиновидная	<i>Hippophae rhamnoides</i>	масло для наружного применения, внутрь	ранозаживляющее
14	Пихта сибирская	<i>Abies sibirica</i>	раствор для местного и наружного применения, масло для местного применения, жидкий экстракт	противовоспалительное, антисептическое, ранозаживляющее
15	Ромашка аптечная (цветки)	<i>Matricaria chamomilla</i>	растительное измельченное сырье, жидкий экстракт, порошок	противовоспалительное
16	Софора японская	<i>Styphnolobium japonicum</i>	раствор для наружного применения	противовоспалительное
17	Сушеница топяная (травы)	<i>Gnaphalium uliginosum</i>	масло для местного применения	ранозаживляющее, противовоспалительное
18	Тысячелистник обыкновенный (травы)	<i>Achillea millefolium</i>	растительное измельченное сырье, сухой экстракт	противовоспалительное
19	Черёда трёхраздельная	<i>Bidens tripartita</i>	растительное измельченное сырье, порошок	противовоспалительное
20	Чистотел большой (травы)	<i>Chelidonium majus</i>	растительное измельченное сырье, порошок	противовоспалительное, антисептическое
21	Шалфей лекарственный (листья)	<i>Salvia officinalis</i>	растительное измельченное сырье, масло для наружного применения	противовоспалительное
22	Эвкалипт прутовидный (листья)	<i>Eucalyptus viminalis</i>	растительное измельченное сырье, порошок, раствор для местного и наружного, мазь, масло для наружного применения	антисептическое, противовоспалительное

Как видно из табл. 1, большинство растений, применяемых при заболеваниях кожи, обладают противовоспалительным эффектом, который во многом обуславливается действием полифенольных соединений, в частности, флавоноидов.

Из литературных данных известно, что флавоноиды, в особенности кверцитин, рутин, мирецитин, оказывают ингибирующее действие на основные воспалительные ферменты (фосфолипаза А₂, циклооксигеназа и липооксигеназа) и синтез хемотаксических факторов клеток воспаления (макрофаги, лейкоциты, фибробласты) [Духанин А.С., Шимановский Н.Л., 2015; Зверев Я.Ф., 2017], а также обладают мембранотропным действием. Флавоноиды уменьшают проницаемость стенок капилляров за счет ингибирования гиалуронидазы [Турсыматова О. И., Дильмаханова М. М, 2015] и способны косвенно влиять на выработку эндогенного оксида азота (NO), одного из факторов в звене воспалительного процесса, улучшая вазодилатирующую и анти-тромботическую функцию эндотелия и микроциркуляцию, вследствие чего ускоряется регенерация пораженных тканей [Kurahashi T., Fujii J., 2015; Ломкина Е.М., Червонная Н.М., 2016]. По этой причине флавоноиды также эффективны в лечении раневых повреждений кожи [Воронков А.В., Степанова Э.Ф., 2014].

Учитывая ведущую роль свободнорадикальных процессов в патогенезе воспаления, особую роль в терапевтической эффективности полифенольных соединений играют их антиоксидантные свойства. Флавоноиды ингибируют процессы ПОЛ, предохраняя клеточные мембраны от действия свободнорадикальных соединений [Зверев Я.Ф., 2017] и в особенности повышают эффективность эндогенной антиоксидантной системы печени [Куркин, В.А., Кулагин О.Л., 2008]. Следует принимать во внимание, что длительная терапия дерматозов синтетическими препаратами (топические и системные глюкокортикостероиды, антигистаминные препараты) может вызывать серьезные побочные реакции, в том числе поражение печени [Федотов В. П, 2015] и

другие патологические состояния, связанные с нарушением эндогенной антиоксидантной защиты. Поэтому вспомогательная терапия фитопрепаратами особенно актуальна для профилактики поражения печени синтетическими лекарственными препаратами.

1.3. Общая характеристика растений рода *Caragana* Lam.

Род растений *Caragana* семейства Fabaceae (Бобовые) включает более 100 видов, представляющих собой листопадные кустарники и кустарнички высотой до 2 м [Чинбантын С., 1997].

На территории России произрастает около 15 видов растения в европейской части (кроме севера), на Кавказе, в Западной и Восточной Сибири, на Дальнем Востоке [Холявко С. В., 1980; Бондарева Н. А., 1987; Партилтаев В. В., Танхаева Л. М., 2013]. За рубежом представители растений рода *Caragana* встречаются в юго-западной части Китая, в Монголии и Афганистане [Zhang M., Fritsch P. W., 2009]. Карагана распространена как в засушливых регионах, так и на территориях с холодным климатом [Shortt K. B., 2012].

Изучение рода *Caragana* началось еще в прошлом веке. Первую классификацию этих растений установил Комаров в своей монографии (1908), в которой содержалось описание восьми видов растения: *Altaganae*, *Bracteolatae* Kom., *Erinacanthae* Kom., *Frutescentes* Kom., *Jubatae* Kom., *Occidentales* Kom., *Pygmaeae* Kom., and *Spinosae* Kom [Zhang M., Fritsch P. W., 2009].

Некоторые виды растений рода *Caragana*:

- Карагана древовидная, сибирская, Буа – *Caragana arborescens* Lam.
- Карагана оранжевая – *Caragana aurantica* Koehne.
- Карагана короткоиглая, трехцветковая – *Caragana brevispina* Royle.

- Карагана кустарниковая, дереза, чапыжник – *Caragana frutex* (L.) K.Koch.
- Карагана Джерарда – *Caragana gerardiana* Benth.
- Карагана гривастая, верблюжий хвост – *Caragana jubata* (Pall.) Poir.
- Карагана Максимовича – *Caragana maximowiczii* Komar.
- Карагана мелколистная – *Caragana microphylla* Lam.
- Карагана горнолюбивая – *Caragana oreophila* W.W.Sm.
- Карагана карликовая – *Caragana pygmaea* (L.) DC.
- Карагана китайская, Хемлага, уссурийская – *Caragana sinica* (Buc, hoz) Rehd.
- Карагана колючая – *Caragana spinosa* (L.) DC.
- Карагана тибетская – *Caragana tibetica* (Schneid.) Komar.
- Карагана трагакантовая – *Caragana tragacanthoides* (Pall.) Poir.

Некоторые из видов представляют ценность для озеленения, другие – для лесоразведения в степных районах. Виды *C. arborescens* (Карагана древовидная) и *C. frutex* (Карагана кустарниковая) длительное время используются в садово-парковом строительстве в России и за рубежом, остальные сибирские виды в культуре малоизвестны [Курбатский В. И., 1999; Ооржак А.В. , Дубровский Н.Г., 2013]. В Новосибирске *C. arborescens* была введена в озеленение со времени первых озеленительных работ в начале прошлого века и получила широкое распространение в городских насаждениях [Чиндяева Л. Н., Киселева Т. И., 2016].

Многие виды этих растений используются в традиционной медицине. *C. spinosa* как общеукрепляющее и противовоспалительное средство, для лечения острых и хронических форм заболеваний кожи и внутренних органов [Блинова К. Ф., Куваев В. Б., 1965]. *C. frutex* используют для лечения экссудативного диатеза и других заболеваний кожи, отвар этого растения обладает антибактериальной активностью [Губанов И. А., 2004].

Представители растений рода *Caragana* Lam. вызывают большой интерес в качестве лекарственных, поскольку их некоторые виды широко используются в этномедицине, обладая противомикробными, противовоспалительными и жаропонижающими свойствами [Полещук В. А., 2011]. Однако на сегодняшний день в литературе мало данных о растениях *Caragana*, их полноценном химическом составе, фармакологической активности и систематическом применении в медицинской практике. В настоящее время известно о химическом составе около 30 видов растений данного рода, 15 из которых растут на территории России [Партилтаев В. В., Танхаева Л. М., 2013; Ахметова М. Р., 2013].

1.4. Характеристика растения *Caragana jubata* (Pall.) Poir.

Карагана гривастая или верблюжий хвост (*Caragana jubata* (Pall.) Poir.) – кустарник семейства бобовые высотой 30–100 см. Ветви саблевидные с черноватой корой, густо покрытой живыми опушенными молодыми черешками и отмершими игольчатыми черешками прошлых лет в виде тонких иголок. Листья небольшие и имеют сложноперистую форму. Прилистники имеют треугольную форму и оканчиваются шипом. Цветоножки короткие. Венчик белый с розоватым оттенком. Бобы длиной 1,5–2,0 см продолговатые и волосистые. Ареал произрастания включает лесной и субальпийский пояса. Цветет в июне, размножается семенами [Bhardwaj Р.К., 2013; Павлова П. А., 2015]. Название этого растения происходит от киргизских слов: кара (черный), гана (ухо) – по названию черноухих лисиц, живущих в зарослях караганы кустарниковой (*Caragana frutex*).

В России карагана гривастая распространена на Дальнем Востоке, в районе вершины Мунку-Сардык, а также в горах Средней Азии. Произрастает на юго-востоке Тувы (Сангиленском горном таежно-лугово-степном и Восточно-Тануольском природных районах) [Лоскутов Р. И., 2012]. Также кара-

гана гривастая встречается в виде кустарника до 3 м высотой в Арктике, Сибирской Арктике, Восточной Сибири (во всех районах Енисея), на Дальнем Востоке (в Охотском крае). Растет на сухих каменистых склонах, песчаных и каменистых берегах озер, на морских террасах, среди кустарников, в высокогорных степях и лугах [Буданцев А.Л., 2010].

За рубежом широко произрастает в Монголии, северной части Китая, Тибете [Song P., Yang X.Z., 2010]. Обычно растет на глинистых, каменистых высокогорных склонах, в высокогорных степях [Чиндяева Л. Н., Киселева Т. И., 2016].

Интродукционное испытание караганы в ЦСБС (Центральный сибирский ботанический сад СО РАН) началось с середины 1950-х гг. [Гайкова О.Ю., Попов В.В., 2010; Чиндяева Л. Н., Киселева Т. И., 2016].

Карагана гривастая активно используется в этномедицине Восточной Сибири, особенно Иркутской области, юго-западных районов Бурятии, юго-восточных областей Тувы [Телятьев В.В., 1985]. За рубежом – в северной части Китая, в Тибете и Монголии.

В традиционной медицине отвары корней и ветвей караганы гривастой применяют при острых респираторных заболеваниях и гриппе. Благодаря легкому раздражающему действию присутствующих сапонинов происходит усиление секреции желез, что ведет к разжижению мокроты и к облегчению ее эвакуации [Рыбакова Е. Д., Павлова Л. А., 2013]. Карагану гривастую применяют наружно при раневых инфекциях, особенно гнойных. Растение также используется при бессоннице, гипертонической болезни, радикулите. Отвар надземной части растения применяется при лечении различных воспалительных процессов [Курбатский В. И., 1999]. Часто карагану гривастую используют при заболеваниях кожи и слизистых: при дерматите, гнойничковых поражениях кожи, пиодермите, стоматите, гингивите, ангине и др. [Артемьева И. А., 2009]. Для заготовок собирают только надземную часть растения [Буданцев А.Л., 2010].

При ангине полощут горло теплым отваром через каждые 30 мин в течение 2–3 дней. Внутрь отвар караганы назначают при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, геморрое, язве желудка и двенадцатиперстной кишки, при ревматизме [Беркутенко А. Н., Вирек Э. Г., 1995]. Имеются сведения об использовании отвара *C. jubata* при заболеваниях печени [Аюшиева С. Ц., 2006].

В этномедицине Восточной Сибири большой популярностью карагана гривастая пользуется при лечении воспалительных заболеваний женской половой сферы: при эрозии шейки матки, метроррагиях и меноррагиях, нарушениях менструации и при других женских заболеваниях. Часто при лечении тех или иных заболеваний сочетают наружное применение отвара с приемом внутрь [Минаева, В. Г., 1991; Грыдина Н.М., 2014].

В этномедицине Тувы карагана гривастая используется как понижающее давление, общеукрепляющее и повышающее физическую выносливость средство [Ооржак А.В., Дубровский Н.Г., 2013].

В традиционной медицине Китая карагану гривастую используют при заболеваниях крови и кровеносной системы: в частности, при атеросклерозе, тромбозе, артериальной гипертензии [Song P., Yang X.Z., 2010]. В тибетской медицине растение используется при заболеваниях мышечной системы, при поражениях кожи [Meng Q., 2009].

1.5. Потенциальная фармакологическая активность

***Caragana jubata* (Pall.) Poir.**

Авторами Э. А. Алексеевой и Л. Н. Шантановой в Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН на основе тибетских прописей – жудлэнов – был разработан и исследован экспериментальный препарат «Кардекаим» в виде 40%-ного спиртового извлечения, в котором использу-

ются побеги караганы гривастой. Также в его состав входят семена кардамона (*Elettaria cardamomum*), корневища девясила высокого (*Inula helenium* L.) и имбиря (*Zingiber officinale* Rosc.). Данный препарат в объеме 5 мл/кг оказывает на животных выраженное актопротекторное (повышает физическую активность), радиопротекторное (при облучении 450 Р, 650 Р), антистрессовое и антигипоксическое действие. Авторы обосновывают широкий спектр фармакологической активности «Кардекаима» действием биологически активных веществ, в частности, флавоноидов [Алексеева Э. А., Шантанова Л. Н., 2010].

Авторами С. С. Петровой и Д. Б. Гатыповой в Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН на основе жудлэна «Зо-му-шин» был разработан препарат «Диккар» (28%-ное спиртовое извлечение), в состав которого, помимо корней и корневищ девясила высокого, корневищ имбиря лекарственного и плодов кардамона среднего, входит древесная часть караганы гривастой. Данный препарат проявляет антистрессовую активность [Петрова С. С., 2009].

В исследовании Song Ping, Yang Xin-zhou было показано, что за счет выделенных птерокарпановых гликозидов карагана гривастая обладает противоопухолевой активностью против двух клеточных линий опухолей A549 и P388 [Song P., Yang X.Z., 2010].

В исследовании Lili Zhu и Xiaojie Xu из караганы гривастой были выделены два ингибитора рецепторов эпидермального фактора роста, что указывает на противоопухолевую активность этого растения. Также авторы отмечают возможное противоопухолевое влияние флавоноидов, содержащихся в данном растении [Zhu, L., 2003].

В других экспериментальных исследованиях было установлено, что сумма флавоноидов караганы гривастой обладает гепатопротекторными свойствами [Аюшиева С. Ц., 2006], настойка древесины – стресспротектор-

ными свойствами, ветви оказывают противодиабетическое действие, надземная часть проявляет антибактериальную и противовирусную активность в отношении вирусов гриппа «Гонконг», [Буданцев А.Л., 2001]. Эффективность караганы гривастой показана на модели системного воспаления, индуцированного введением бактериального липополисахарида [Lee J. H., Whang K., 2016]. Отвар надземной части обладает гипогликемическими свойствами [Шпекина Г.А, Половинко А.Е., 1988], флавоноиды и отвар надземной части – противовоспалительными и гепатопротекторными свойствами [Вихтинская И.Л., Батик В.В., 1988; Белодубровская Г. А., 1990]. Отвар надземной части проявляет противовирусную активность в отношении вируса парагриппа 3-го типа и вирусов простого герпеса 1-го и 2-го типов [Умаров, А., 1976; Meng Q., Niu Y., 2009].

Имеются данные о наличии ангиопротекторной активности караганы гривастой. Для изучения ангиопротекторной активности растения авторы использовали скрининговый метод К. Н. Монаковой. Отвары надземных частей 1:10 и деалкоголизированные настойки той же концентрации вводили мышам внутрь по 0,5 мл/10 г (5 г/кг в пересчете на сухое сырье) через зонд в течение 7 дней до начала опыта. Мышам внутривенно вводили 0,5%-ный раствор трипанового синего («Биолот»). Спустя 30 сек. на область брюшной стенки наносили ксилол, который повреждал сосуды кожи. Секундомером измеряли время появления первых слабо окрашенных, а затем отчетливых петехий. В качестве препарата сравнения использовался рутин [Монакова К.Н., 1956; Белодубровская, Г. А., 1990].

В клинике экстракт надземной части эффективен в лечении хронического афтозного стоматита [Артемьева И. А., 2009]. Имеются данные о разработке эмульсионной мази, содержащей сухой экстракт караганы гривастой и обладающей противогерпетической активностью [Сёмкина О. А., 2005].

В экспериментах на животных выявлены противовоспалительное и гепатопротекторное действие растения. Поэтому дальнейшее изучение растения как средства лечения гепатита и цирроза печени считается перспективным [Аюшиева С. Ц., 2006].

1.6. Биологически активные вещества *Caragana jubata* (Pall.) Poir.

Растения рода *Caragana* Lam. содержат разнообразные биологически активные вещества. В надземной части *C. frutex* (L.) содержатся флавоноиды (до 5,4%, в том числе изофлавоноиды, кумарины (в том числе фурукумарины), а также стероиды (в том числе фитостерины), фенокарболовые кислоты, углеводы, высшие жирные кислоты установленной структуры [Ахметова М. Р., 2013]. В *C. sinica* обнаружены индольные алколоиды, относящиеся к производным хинолина [Wang S., Ma D., 2005]. Из листьев *C. jubata* выделено до 7,8% дубильных веществ, алкалоиды, сапонины, фенольные кислоты, витамин С, из семян *C. arborescens* – до 15,8% жирного масла, эфирное масло. [Буданцев А.Л., 2010].

По данным монографии А. Умарова *Flavonoids of C. jubata* [Umarov, A., 1971] в карагане гривастой впервые был обнаружен комплекс флавоноидов, полученный из спиртового извлечения надземной части растения: кверцетин, изорамнетин, мирицетин. Также обнаружено около 7,03% дубильных веществ, 0,66% эфирных масел, 0,8% алкалоидов, 1,05% флавоноидов, 1,85% сапонинов, 2% кумаринов, 0,51% аскорбиновой кислоты, 1,92% органических кислот, 6,28% смолистых веществ, 1,34% сахаров и стерина. Тем не менее, П. Д. Соколов указывает, что дубильных веществ в растении не содержится [Соколов П. Д., 1961].

В других исследованиях [Партилтаев В. В., Танхаева Л. М., 2013] методом ВЭТСХ (высокоэффективной тонкослойной хроматографии) было определено общее содержание фенольных соединений: в цветках *C. jubata* –

101,7 мг/г, в эпидермисе – 21,9 мг/кг, в листьях – 97,19 мг/г. Содержание флавоноидов в цветках составляло 47,24 мг/г, в эпидермисе стеблей – 1,48 мг/г, в листьях – 37,14 мг/кг. Установлено, что доминирующим соединением в цветках являются флавонол-гликозиды: рутин, нарциссин, изокверцитрин. В стеблях отмечено содержание агликонов флавоноидов – кверцетина и кемпферола, в листьях – формонетина и его гликозидов. Авторы статьи предполагают, что наличие кверцетина, изорамнетина и кемпферола является хемотаксономичным признаком растений рода *Caragana*.

Определен химический состав флавоноидов в ветвях *C. jubata*: мирицетин, кверцетин, изорамнетин, 3- α -L-рамнофуранозид, 3- β -D-ксилопиранозид и 3- β -D-галактопиранозид кверцетина, 3- α -L-рамнофуранозид, 3- α -L-арабинофуранозид и 3- β -D-галактопиранозидизорамнетина, 3- α -L-рамнофуранозид и 3- β -D-ксилопиранозид мирицетина, формонетин, 7,4'-дигидрокси-3'-метоксиизофлаван [Umarov, A., 1971].

В исследовании [Song P., Yang X.Z., 2010] методом ВЭЖХ в надземной части *C. jubata*, экстрагированной метанолом, были обнаружены птерокарпановые гликозиды: (–)-маакияин 3-O-6'-O-ацетил- β -D-глюкопиранозид, (–)-маакияин 3-O- β -D-глюкопиранозид и (–)-маакияин 3-O- β -D-галактопиранозид.

Помимо флавоноидов, в *C. jubata* содержатся стилбеноиды [Meng Q., 2009]. В стеблях и листьях караганы были обнаружены кассигарол Е (4-[(2R,3R)-2-(3,5-дигидроксифенил)-6-[(E)-2-(3,5-дигидроксифенил) этилфенил]-2,3-дигидро-1,4-бензодиоксин-3-yl] бензол-1,2-диол) [Baba, K., 1994], пикеатаннол (4-[2-(3,5-дигидроксифенил) этенил] бензол-1,2-диол) [Zhu, L., 2003], ресвератрол (3,5,4'-тригидрокси-транс-стилбен) [Song P., Yang X.Z., 2010], также 7,4-дигидрокси-3-метоксиизофлаван и другие изофлавоны: каянин, тексацин [Meng Q., 2009].

Пикеатаннол и ресвератрол являются мощными антиоксидантами и обладают широким терапевтическим спектром действия. Пикеатаннол способен *in vitro* блокировать вирусную тирозинкиназу LMP2A, играющую роль в развитии лейкемии, неходжкинской лимфомы и в других заболеваний, связанных с вирусом Эпштейна-Барр, а также замедлять или полностью ингибировать адипогенез в клеточной культуре [Zhu L., Xu X., 2003].

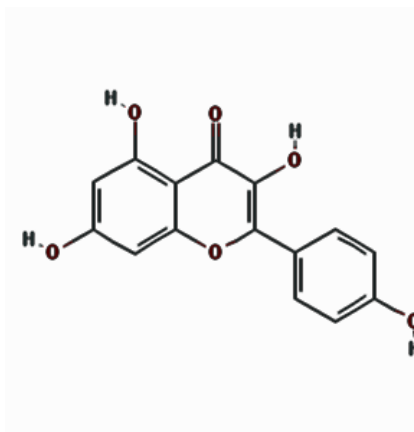
Имеются данные о содержании в карагане микронутриентов кальция, магния, цинка [Song P., Yang X.Z., 2010].

Однако согласно данным литературы, растение может содержать и другие биологически активные вещества, в том числе группы БАВ, обладающих потенциальной токсичностью: кумарины (в их числе фурукумарины), стероиды (в их числе фитостерины), сапонины, алкалоиды, эфирные масла.

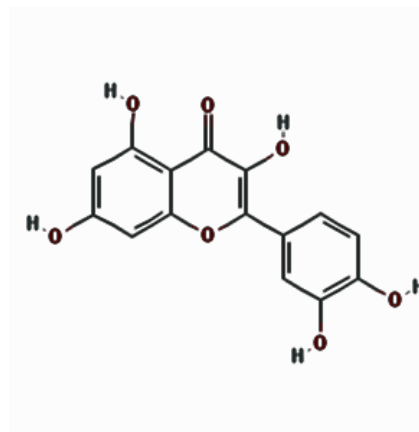
Например, токсичность донника лекарственного – *Herba Meliloti* (*Melilotus officinalis* (L.) Pall. (семейство бобовые – Fabaceae) обусловлена содержанием в ней кумарина и образующегося из него при хранении дикумарины [Саканян Е. И., Шемерянкина Т. Б., 2015]. В связи с установленной фототоксичностью (фотогенотоксичностью и фотоканцерогенностью) фурукумаринов, содержащихся в растении дягиль лекарственный (*Angelica archangelica* L., семейство зонтичные – Umbelliferae), рекомендованы ограничения при приеме в пищу лекарственных растительных препаратов и БАД на основе этого растения, указаны нормы допустимого суточного потребления кумаринов. Отмечено, что кумарины экстрагируются из сырья полярными растворителями (метанол, этанол, этилацетат, хлороформ, дихлорэтан), липофильные фурукумарины и пиранокумарины не растворяются в сильных растворителях.

На рис. 1 представлены химические соединения, согласно литературным данным, найденные в *C. jubata*.

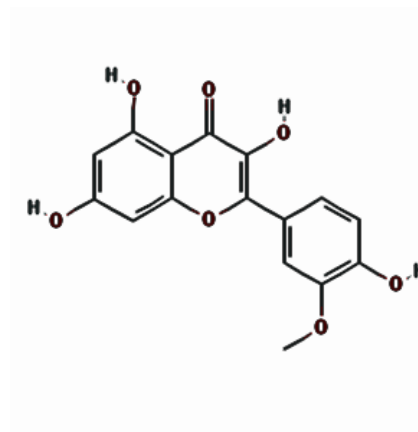
Флавонолы



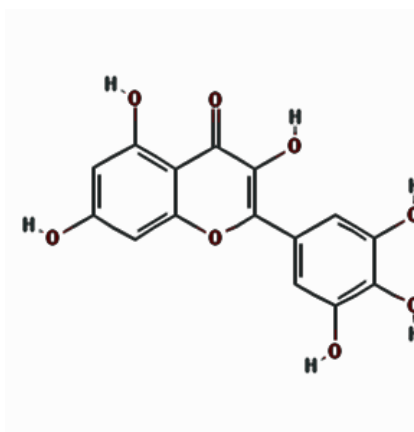
Кемпферол



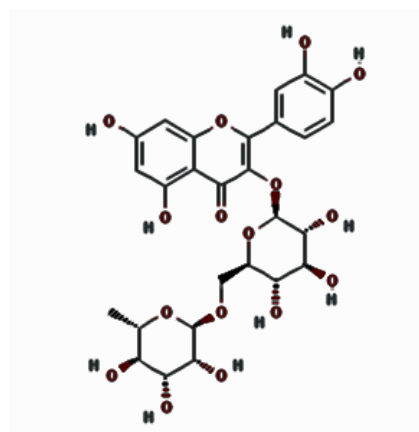
Кверцетин



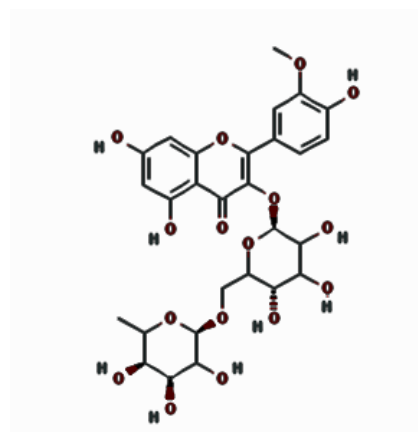
Изорамнетин



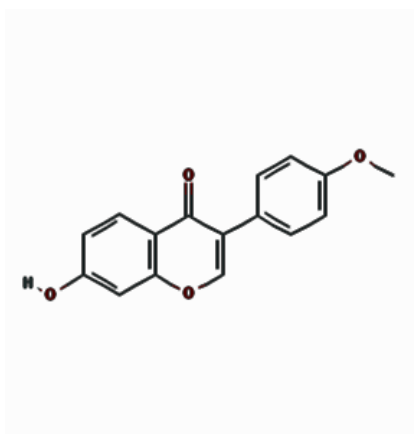
Мирецитин



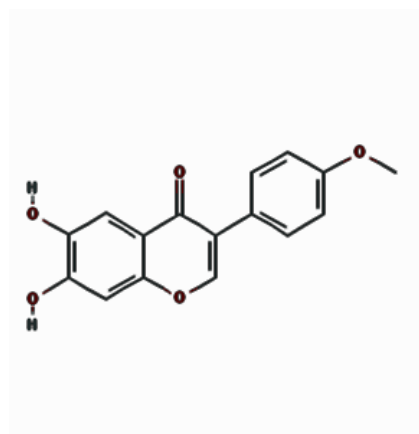
Рутин



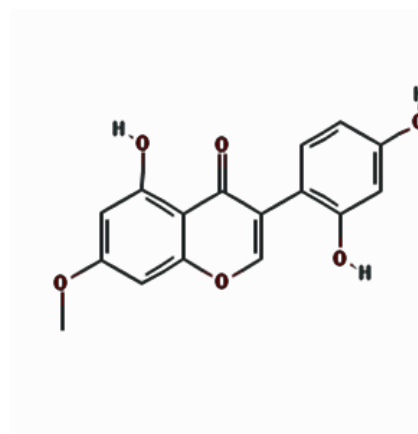
Нарциссин



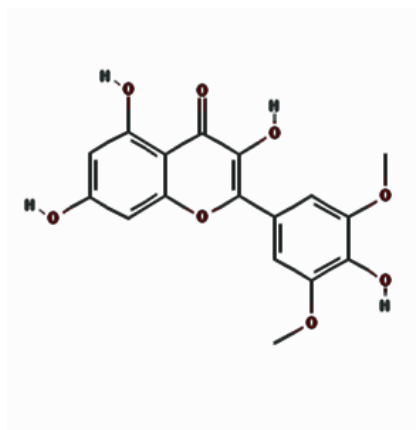
Формонетин



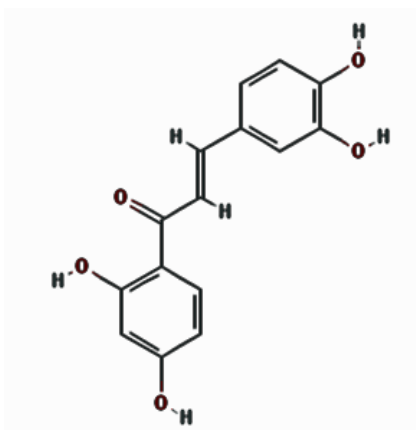
Тексацин



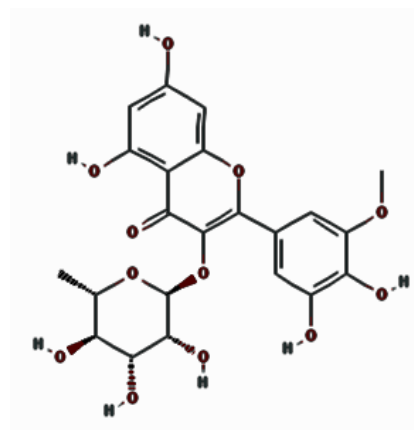
Каянин



Сирингетин

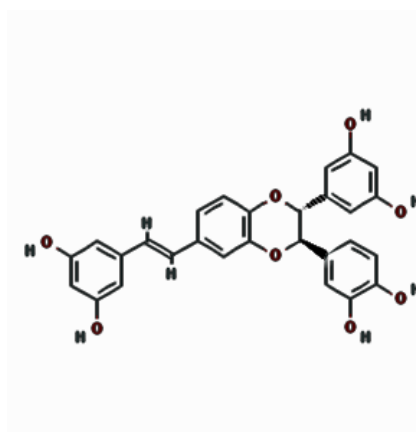


Бутеин

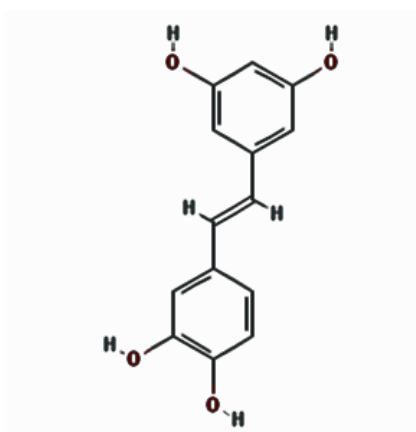


Ларицитрин

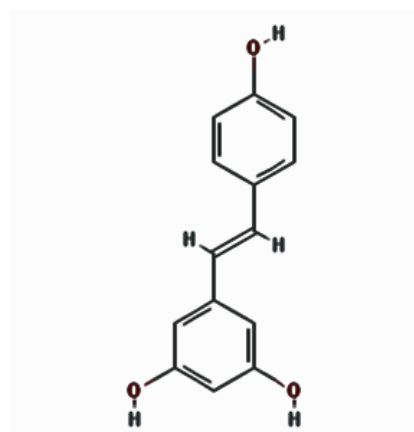
Стилбеноиды



Кассигарол Е



Пикеатаннол



Ресвератрол

Рисунок 1. Биологически активные вещества, обнаруженные
в *C. jubata* (Pall.) Poir.

Таким образом, на основании литературных данных можно предположить, что доминирующей группой биологических активных веществ караганы гривастой являются полифенольные соединения (флавоноиды, в том числе изофлаваноиды).

Известно, что флавоноиды обладают широким спектром фармакологического действия. У них выраженная противовоспалительная активность и сильные антиоксидантные свойства. Поэтому карагана гривастая является перспективным растением для дальнейшего фармакологического исследования при местных воспалительных заболеваниях кожи, а также может обладать гепатопротекторной и гиполипидемической активностью за счет антиоксидантного и мембранопротекторного механизма действия.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект исследования

Сырье *C. jubata* было собрано и заготовлено в Кунгуртургском районе (Республика Тыва) весной 2010 и 2015 гг. Идентификация сырья и его морфолого-анатомические признаки проводились в соответствии с методикой, описанной в статье Е.Д. Рыбаковой «Фармакогностическое изучение листьев и травы караганы гривастой *Caragana jubata* (Fabaceae)».

Было проведено исследование по определению содержания экстрактивных веществ в сырье с различными экстрагентами: водное извлечение, 40%-, 70%-, 95%-ное водно-спиртовое извлечение. Анализ полученных результатов показал, что наибольший выход экстрактивных веществ был в водном извлечении.

Для исследования фармакологических свойств было использовано лиофилизированное водное извлечение, полученное из побегов надземной части *C. jubata*, собранной в 2015 г., для исследования химического состава – лиофилизированное водное извлечение, полученное из побегов надземной части *C. jubata*, собранной в 2010 и 2015 гг., а для исследования антиоксидантной активности – водное извлечение из побегов надземной части *C. jubata*, собранной в 2010 и 2015 гг. Так как сырье обладало грубой морфологической структурой, в соответствии с рекомендациями ОФС.1.4.1.0018.15 «Настои и отвары» ГФ XIII для исследования был выбран вид водного извлечения – отвар, который готовился в соотношении 1:10.

Экстракцию сырья проводили в течение 30 мин на кипящей водяной бане. Полученный отвар охлаждали при комнатной температуре в течение 10 мин, процеживали и отфильтровывали. Полученное водное извлечение упаривали до содержания влаги 40% на ротаторном испарителе BUCHI (Германия) при следующих условиях: разрежение (72 ± 2) мбар, температура холодиль-

ника ($+10 \pm 2$) °С. Из полученной вытяжки готовили лиофилизат, что обеспечивало точность дозирования. Для этого полученную вытяжку замораживали при температуре ($-24,0 \pm 1,0$) °С. Процесс высушивания проводили в сублимационной сушилке Heto Dry Winner (Дания) при остаточном давлении ($0,1 \pm 0,03$) мбар и комнатной температуре в течение 22–24 ч (влажность 5%). В водном извлечении также был определен выход сухого остатка, который составил 18,2% (рассчитано по формуле из ОФС.1.5.3.0006.15 «Определение содержания экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах», ГФ XIII):

$$X = \frac{m \times 100 \times 100 \times V}{a \times (100 - W) \times 25}, \text{ где} \quad (1)$$

X – содержание экстрактивных веществ, %; m – масса сухого остатка, г; a – навеска лекарственного растительного сырья, г; V – объем экстрагента, используемого при однократной обработке лекарственного растительного сырья, мл; W – влажность лекарственного растительного сырья, %.

Полученное лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой (ЛВИК) использовалось в исследовании фармакологической активности *C. jubata* в экспериментальной дозе 51,4 мг/кг в пересчете на сухой остаток, определенной согласно литературным данным по применению сырья в этно-медицине [Телятьев В.В., 1976]. С учетом коэффициента межвидового переноса [Хабриев Р.У., 2005] были определены дозировки для крыс и мышей, доза на крысу составляла 308,4 мг/кг, на мышью – 626 мг/кг.

2.2. Методы исследования химического состава (полифенольных соединений) и антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

2.2.1. Анализ флавоноидов методом ВЭЖХ с диодно-матричным спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием

Исследования проводились с использованием системы ВЭЖХ Agilent 1100 (Agilent Technologies, США), оснащенной бинарным насосом, дегазатором, термостатируемым автосамплером, термостатом колонок, диодно-матричным спектрофотометрическим детектором (ДМД) (Agilent 1100 Series Diode Array) и времяпролетным масс-спектрометрическим (МС) детектором (Agilent 6200 TOF LC/MS). Идентификацию и определение содержания флавоноидов проводили по оригинальной, ранее разработанной Перовой И.Б методике для анализа флавоноидов в плодах черники обыкновенной, аронии черноплодной, смородины черной и калины обыкновенной [Перова И. Б., 2014].

Условия хроматографии

Неподвижная фаза: колонка ProteCol C18 НРН125 250×4,6 мм с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза: А – 0,1% раствор муравьиной кислоты, В – ацетонитрил. Градиентное элюирование 0–5 мин, 15–20% В, 5–20 мин, 20–40% В, 20–30 мин, 30–40 мин, 40–60% В, затем регенерация колонки 41–50 мин, 15% В. Температура колонки 30 °С, скорость подачи элюента 0,5 мл/мин, объем вводимой пробы 10 мкл. Диодно-матричное детектирование проводилось при 3 аналитических длинах волн: 339, 350 и 365 нм.

Условия масс-детектирования

Ионизация электроспреем, сканирование масс – в режиме регистрации положительных ионов (ESI-MS⁺) в диапазоне m/z 200–1000 Да. Рабочие параметры источника ионизации: напряжение на капилляре 3500 В, поток газа-осушителя (азот) 9 л/мин, температура 325 °С, давление на распылителе 0,27 МПа. Напряжение на фрагменторе 175 В, на конусе – 65 В, на октополе ОСТ

1RF Vpp – 250 В. Обработка данных осуществлялась с помощью программного обеспечения Agilent MassHunter Workstation Software. Идентификация флавоноидов основывалась на совпадении времен удерживания УФ- и масс-спектров индивидуальных соединений с имеющимися стандартами и литературными данными. Количественное определение флавоноидов проводилось методом внешнего стандарта. Содержание гликозидов кемпферола в водных извлечениях караганы (сборы 2010 и 2015 гг.) рассчитывали по стандарту кемпферол-3-глюкозида. Дигликозиды кверцетина и изорамнетина рассчитывали по стандарту рутина, 3-галактозиды и 3-глюкозиды мирицетина, кверцетина и изорамнетина – по стандартам гиперозида и изокверцитрина соответственно. Количество 3-рамнозидов мирицетина, кверцетина, изорамнетина, ларицитрина и сирингетина оценивалось с использованием стандарта изокверцитрина, а пентозидов (в т.ч. арабинозидов и ксилозидов) этих флавоноидов – с использованием стандарта авикулярина.

Содержание каждого индивидуального флавоноида в исследуемых образцах в мг/г рассчитывали методом внешнего стандарта по формуле:

$$C_{xi} = \frac{S_x \times C_{st} \times K \times V_x \times 1000}{S_{st} \times m_x}, \text{ где} \quad (2)$$

C_{xi} – содержание индивидуального флавоноида в водном извлечении, мг/г; S_x – площадь пика флавоноида в водном извлечении; S_{st} – площадь пика внешнего стандарта; C_{st} – концентрация внешнего стандарта, мг/мл; K – содержание флавоноида в стандартном образце в %, деленное на 100; V_x – объем разведения лиофилизированного водного извлечения, мл; m_x – масса навески лиофилизированного водного извлечения, мг; 1000 – коэффициент пересчета на 1 г.

Суммарное содержание флавоноидов в водных извлечениях караганы (2010 и 2015 гг.) рассчитывали по формуле:

$$\sum \text{флав.} = \sum C_{xi} \quad (3)$$

Метрологические характеристики методики оценивали согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» ГФ III изд.

Подготовка проб

Около 0,5 г (точная навеска) лиофилизированных извлечений караганы гривастой (сборы 2010 и 2015 гг.) отдельно помещали в мерные колбы на 25 мл, добавляли 20 мл 60% водного метанола. Экстракцию проводили на ультразвуковой бане при комнатной температуре в течение 25 мин. Далее образцы доводили до метки 60% водным метанолом. Аликвоту образцов помещали в центрифужную пробирку вместимостью 1,5 мл и центрифугировали в течение 5 мин при 15000 об/мин. Надосадочную жидкость переносили в вials вместимостью 0,5 мл и помещали в автосемплер.

Стандарты и растворители

В качестве стандартных образцов использовались коммерчески доступные индивидуальные вещества: рутин ($\geq 94\%$, Sigma, США), гиперозид ($\geq 95\%$, HWI ANALYTIK GmbH, Германия), изокверцитрин ($\geq 94\%$, HWI ANALYTIK GmbH, Германия), авикулярин (ChromaDex, США), кемпферол-3-глюкозид ($\geq 95\%$, PhytoLab, Германия), витексин ($\geq 96\%$, Fluka, Швейцария), изовитексин ($\geq 99\%$, Extrasynthese, Франция), лютеолин-7-глюкозид ($\geq 98\%$, Extrasynthese, Франция), мирицетин ($\sim 85\%$, Sigma), кверцетин ($\geq 98\%$, Sigma, США), кемпферол ($\geq 99\%$, Extrasynthese, Франция), изорамнетин ($\geq 99\%$, Fluka, Швейцария), лютеолин ($\geq 99\%$, Extrasynthese, Франция), апигенин ($\geq 95\%$, Sigma, США). При проведении исследований были использованы следующие растворители и реактивы: вода очищенная (получена с помощью системы MilliQ® Advantage A10), ацетонитрил UPLC/HPLC grade производства AppliChem PanReac (Дармштадт, Германия), метанол UPLC/HPLC grade производства J.T. Baker (Avantor Performance Materials, Пало-Альто, США),

муравьиная кислота 98–100% производства Merck (Дармштадт, Германия), натрия хлорид («Обновление», Россия).

2.2.2. Исследование антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой методом активированной хемилюминесценции АБАП *in vitro*

Для приготовления водных извлечений к навеске сырья добавляли дистиллированную воду (из расчета 1 мг/мл), полученный образец перемешивали и инкубировали в течение 30 мин на кипящей водяной бане. Далее пробы охлаждали, восстанавливали общий объем дистиллированной водой и использовали для дальнейших исследований. Антиоксидантную активность отдельно приготовленных образцов водных извлечений (сборы 2010 и 2015 гг.) определяли по торможению ими окисления люминола, которое индуцировали водорастворимыми пероксильными радикалами, образующимися при термическом разложении 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП) [Чехани Н.Р., Теселкин Ю.О., 2012]. Реакционная среда имела следующий состав: 50 мкМ люминола (чда, «Вектон», Россия), 200 мкМ ЭДТА ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich) и 1 мМ АБАП (Aldrich, США) в 0,1 М Трис-HCl буфере, содержащем 0,1 М хлорида калия (Merck, Германия) pH 8,0. Процесс окисления люминола сопровождался развитием хемилюминесценции (ХЛ), интенсивность которой достигала стационарного уровня через 10 мин после добавления АБАП. Для оценки АОА водных извлечений их добавляли в реакционную среду после достижения стационарного уровня кинетики ХЛ и регистрировали латентный период свечения. В качестве антиоксиданта сравнения использовали тролокс. АОА исследуемых образцов выражали в виде количества ммоль тролокса (Sigma, США) на 1 г сухого вещества сырья («тролоксый эквивалент» АОА). Измерение ХЛ люминола проводили на хемилюминометре Lum-1200 (ООО «ДиСофт», Россия) с программным обес-

печением PowerGraph 3,3 Professional при постоянном перемешивании и температуре 37 °C.

2.3. Лабораторные животные

Исследования фармакологической активности лиофилизированного водного извлечения были проведены на белых беспородных мышах-самцах массой 20–25 г и на белых крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 г, полученных из питомника лабораторных животных «КролИнфо» (Московская область, Орехово-Зуевский район).

Эксперименты на животных проводились с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes. Strasbourg, 1986), с правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 33044-2014) и с Приказом МЗ и СР РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Длительность акклиматизационного периода для всех животных составила 14 дней. Экспериментальные животные содержались в условиях вивария при 12-часовом световом режиме со свободным доступом к воде и стандартному корму (ГОСТ Р 9.804-2006 и РД-АПК 3.10.07.02.-14) в индивидуальных пронумерованных клетках.

2.4. Методы статистической обработки результатов

Результаты исследования обработаны методами вариационной параметрической статистики с использованием t-критерия Стьюдента при нор-

мальном распределении и представлены как средняя величина $\pm$ стандартная ошибка среднего ($M \pm m$) при помощи пакета статистических программ Statistica 10. Различия считались статистически достоверными при уровне отличия $p \leq 0,05$. Обозначения в таблицах:

* – достоверное отличие от интактной группы, $p \leq 0,05$;

** – достоверное отличие от контрольной группы, $p \leq 0,05$;

– достоверное отличие от группы сравнения, $p \leq 0,05$.

2.5. Методы токсикологического исследования лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

2.5.1. Определение острой токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

Исследование острой токсичности водного извлечения караганы гривастой провели на 54 беспородных белых мышах-самцах массой 20–25 г согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.) и ГОСТу 32644-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности (OECD, Test № 423:2001, IDT)» (2015 г.). При оценке острой токсичности раствор ЛВИК испытывали в дозах 626 (экспериментальная терапевтическая доза), 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000 и 7000 мг/кг (максимальная технически возможная доза для введения) (табл. 2). Раствор, который однократно вводился мышам перорально при помощи атравматичного зонда, представлял собой субстанцию темно-коричневого цвета с ароматным запахом. Контрольная группа животных получала изотонический раствор хлорида натрия. Общая продолжительность наблюдения за животными составила 14 суток. В первые сутки животные находились под непрерывным наблюдением. За весь

период наблюдения регистрировались признаки интоксикации, сроки развития интоксикации и гибели животных. Также оценивалось общее состояние животных, двигательная активность, суточное потребление воды и пищи и консистенция каловых мас. На 15-е сутки эксперимента под легким эфирным наркозом осуществляли эвтаназию животных и проводили макроскопическое исследование внутренних органов.

Таблица 2

Схема исследования острой токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

Вид и пол животных	Количество животных в группе	Тестируемое вещество	Доза, мг/кг	Способ введения
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	626	внутрижелудочно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	1000	внутрижелудочно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	2000	внутрижелудочно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	3000	внутрижелудочно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	4000	внутрижелудочно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	5000	внутрижелудочно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	6000	внутрижелудочно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	7000	внутрижелудочно

2.5.2. Определение острой кожной токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

Исследование острой кожной токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой провели на 54 беспородных белых мышях-самцах массой 20–25 г согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.) и ГОСТ 32373-2013 «Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм...

испытаний по оценке острой токсичности при накожном поступлении» (OECD, Test № 423:2001, IDT)» (2015 г.). Всем животным накожно однократно в первые сутки наносили аппликации раствора лиофилизата караганы гривастой в указанных дозах: 626, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000 и 7000 мг/кг (табл. 3). Перед нанесением препаратов у мышей в области спины выбривали участок площадью 2,5 см². Общая продолжительность наблюдения за животными составила 14 суток. В первые сутки животные находились под непрерывным наблюдением. За весь период наблюдения регистрировали признаки интоксикации, сроки развития интоксикации и гибели животных. Также оценивалось общее состояние животных, двигательная активность, суточное потребление воды и пищи и консистенция каловых масс. На 15-е сутки эксперимента под легким эфирным наркозом осуществляли эвтаназию животных и проводили макроскопическое исследование внутренних органов.

Таблица 3

Схема исследования острой накожной токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при накожном применении

Вид и пол животных	Количество животных в группе	Тестируемое вещество	Доза, мг/кг	Способ введения
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	626	накожно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	1000	накожно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	2000	накожно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	3000	накожно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	4000	накожно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	5000	накожно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	6000	накожно
Мыши-самцы	6	лиофилизированное водное извлечение караганы	7000	накожно

2.6. Методы исследования дерматотропной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

2.6.1. Исследование противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при накожном применении на модели контактного дерматита

Исследования противовоспалительной активности полученного лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой проведены с использованием модели контактного дерматита согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.).

Эксперименты осуществляли на 40 аутбредных белых крысах-самцах массой 200–220 г. После завершения 14-дневного карантина все животные были случайным образом разделены на следующие группы по 10 животных в группе (табл. 4):

Таблица 4

Группы исследуемых животных

№ группы	Название группы	Описание группы
1	Интактная n=10	У крыс не вызывали контактный дерматит и не наносили исследуемые препараты
2	Контрольная n=10	Крысам с контактным дерматитом наносили аппликации дистиллированной водой
3	Опытная n=10	Крысам с контактным дерматитом наносили аппликации ЛВИК в виде раствора для местного применения
4	Сравнения n=10	Крысам с контактным дерматитом наносили аппликации крема «Акридерм» (бетаметазон) (АО «Акрихин», Россия).

Для индукции контактного дерматита использовали стандартный алерген – 2,4-динитрохлорбензол (2,4-ДНХБ) (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 5% в смеси этилового спирта 95% и ацетона осч (2:1).

В течение первых 4 суток с момента начала исследования всем животным на предварительно выбритый участок спины площадью 3,5 см² 2 раза в сутки микропипеткой наносили 0,125 мл 5%-ного раствора 2,4-ДНХБ. Критерием развития патологического процесса служило появление на 5-е сутки отека и выраженной эритемы на исследуемом участке кожи с последующим образованием плотной, прилегающей к коже геморрагической корки.

Начиная с 5-х суток эксперимента, крысам опытной группы и группы сравнения в течение 8 суток на область с модельным контактным дерматитом наносили водный раствор ЛВИК и препарат сравнения «Акридерм» (бетаметазон) 1 раз в сутки.

Лиофилизат водного извлечения караганы применяли согласно литературным данным об использовании растения в традиционной медицине – в дозе 10 мг в виде 10%-ного раствора, что соответствует отвару, приготовленному в соотношении 1:10 [Телятьев В.В., 1976]. Свежеприготовленный раствор наносили на пораженный участок кожи микропипеткой в объеме 500 мкл. Животные группы сравнения получали аппликации крема «Акридерм» в дозе, рекомендованной производителем – 1 г. Контрольные животные получали аналогичные по объему и месту нанесения аппликации дистиллированной водой. Продолжительность исследования составляла 12 суток: 4 из них – аппликация 2,4-ДНХБ и 8 – нанесение исследуемых препаратов. На 13-е сутки всех животных выводили из эксперимента с последующим взятием образцов кожного лоскута для гистологических исследований и измерения активности воспалительного фермента миелопероксидазы (МПО).

В ходе эксперимента для оценки эффективности ускорения восстановительных процессов после индукции контактного дерматита были использованы следующие данные:

- балльная оценка проявления контактного дерматита;
- толщина кожной складки в очаге КД в мм;
- гематологические показатели крови подопытных крыс.

Указанные параметры фиксировали трижды в ходе эксперимента:

- после 4 суток нанесения 2,4-ДНХБ до начала лечения;
- после 3 суток лечения КД;
- после 8 суток лечения КД.

Балльную оценку проявления контактного дерматита проводили по специальной шкале кожных проб [Смирнов В.С, Саватеева-Любимова Т.Н., 2013]:

- 0 – отсутствие реакции;
- 0,5 – появление локальных очагов гиперемии;
- 1 – выраженная гиперемия;
- 2 – гиперемия и отечность;
- 3 – резкое покраснение и отек;
- 4 – образование эрозий;
- 5 – образование геморрагической корки.

Оценка противовоспалительной активности

У всех экспериментальных животных с помощью микрометра МК-25 (ЗАО «Крин», Россия) измеряли толщину кожной складки в зоне с контактным дерматитом.

По результатам измерений в конце эксперимента рассчитывали индекс ингибирования воспалительной реакции по формуле [Ершик В. М., Голубцов В. В., 2012]:

$$ИИвр = \frac{d_0 - d}{d_0} \times 100 \%, \text{ где} \quad (4)$$

d_0 – толщина кожной складки до начала лечения, мм,

d – толщина кожной складки после лечения, мм.

Таким образом, эффективность ингибирования воспалительной реакции оценивали по разнице в толщине кожной складки до и после лечения в процентах. Чем больше показатель ИИ, тем более выражено противовоспалительное действие применяемого препарата.

Измерение гематологических показателей

Образцы крови крыс для гематологических исследований отбирались из хвостовой вены в объеме 250 мкл в пробирки ЭДТА–К3 (Apexlab, Россия). Затем кровь анализировали на гематологическом анализаторе BC-3200 vet (Myndray, Китай).

Гистологические исследования

Материал помещали в 10%-ный забуференный формалин и далее обрабатывали в аппарате гистологической проводки тканей, предварительно поместив материал «на ребро» для получения в дальнейшем срезов всей толщи кожного лоскута, и заливали в парафин. Парафиновые блоки нарезали на роторном микротоме на серийные срезы толщиной 4 мкм, затем фиксировали их на предметные стекла, покрытые полилизинным адгезивом (Mainzel Glaser, Германия), и инкубировали при 37 °С в термостате в течение 12 ч. Полученные препараты депарафинировали, регидратировали, окрашивали гематоксилином и эозином и заключали под покровные стекла с использованием монтирующей среды Shandon Mount.

Степень заживления кожи при контактном дерматите оценивали по следующим морфологическим признакам: наличие/отсутствие эрозии и некроза, наличие грануляционной ткани и ее зрелость, эпителизация, характер воспалительного инфильтрата (лейкоцитарная, лимфоидная, макрофагальная).

Измерение активности миелопероксидазы

Для измерения пероксидазной активности кожный лоскут иссекали в области очага контактного дерматита и гомогенизировали в ручном гомогенизаторе Поттера в 0,15 М растворе хлорида натрия. После центрифугирования полученных гомогенатов в течение 20 мин при 3000 об/мин отделяли супернатанты и оценивали в них содержание белка методом Лоури [Lowry О.Н., 1951] и пероксидазную активность по окислению о-дианизидина [Ми-

хальчик Е. В., Титкова С. М., 2006; Sun G., Zhang. Y., 2007]. Используя молярный коэффициент экстинкции $\varepsilon_{560}=20040 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$, рассчитывали количество окисленного о-дианизидина, образовавшегося в течение первых 5 мин реакции, и результат представляли, принимая величину, равную 1 мкмоль/5 мин, за 1 единицу (ед). Активность МПО выражали в пересчете на белок в супернатанте гомогената (ед/г).

2.6.2. Исследование противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при пероральном применении на модели контактного дерматита

Эксперименты осуществляли на 30 аутбредных белых крысах-самцах массой 200–220 г. После завершения 14-дневного карантина все животные были случайным образом разделены на следующие группы по 10 животных в группе (табл. 5).

Таблица 5

Группы исследуемых животных

№ группы	Название группы	Описание группы
1	Интактная n=10	У крыс не вызывали контактный дерматит и не вводили им исследуемые препараты
2	Контрольная n=10	Крысам с контактным дерматитом внутрижелудочно вводили дистиллированную воду
3	Опытная n=10	Крысам с контактным дерматитом внутрижелудочно вводили раствор ЛВИК, разведенного дистиллированной водой.

В течение первых 4 суток с момента начала исследования всем животным, кроме интактных, на предварительно выбритый участок спины площадью $3,5 \text{ см}^2$ 2 раза в сутки микропипеткой наносили 0,125 мл 5%-ного раствора 2,4-ДНХБ. Критерием развития патологического процесса служило появление у животных на 5-е сутки отека и выраженной эритемы на исследуе-

мом участке с последующим образованием плотной, прилегающей к коже геморрагической корки.

Начиная с 5-х суток эксперимента, крысам опытной группы и группы сравнения в течение 8 суток внутрижелудочно 1 раз в сутки вводили раствор ЛВИК в дозе 308 мг/кг в пересчете на сухой остаток. Свежеприготовленный раствор вводили через атравматичный желудочный зонд в объеме 1,5 мл. Контрольные животные получали эквивалентные порции дистиллированной воды.

Продолжительность исследования составляла 12 суток: 4 из них – аппликация 2,4-ДНХБ и 8 – введение препаратов. На 13-е сутки всех животных выводили из эксперимента с последующим взятием образцов кожного лоскута для гистологических исследований и измерения активности воспалительного фермента миелопероксидазы (МПО).

В ходе эксперимента для оценки эффективности ускорения восстановительных процессов после индукции контактного дерматита были использованы следующие данные:

- балльная оценка проявления контактного дерматита;
- толщина кожной складки в очаге КД в мм;
- гематологические показатели крови подопытных крыс.

Указанные параметры фиксировали трижды в ходе эксперимента:

- после 4 суток нанесения 2,4-ДНХБ до начала лечения;
- после 3 суток лечения КД;
- после 8 суток лечения КД.

Балльную оценку проявления контактного дерматита проводили по специальной шкале кожных проб:

- 0 – отсутствие реакции;
- 0,5 – появление локальных очагов гиперемии;
- 1 – выраженная гиперемия;
- 2 – гиперемия и отечность;

- 3 – резкое покраснение и отек;
- 4 – образование эрозий;
- 5 – образование геморрагической корки.

Оценка противовоспалительной активности

У всех экспериментальных животных с помощью микрометра МК-25 (ЗАО «Крин», Россия) измеряли толщину кожной складки пораженного участка.

По результатам измерений в конце эксперимента рассчитывали также индекс ингибирования воспалительной реакции по формуле:

$$ИИвр = \frac{d_0 - d}{d_0} \times 100 \%, \text{ где} \quad (5)$$

d_0 – толщина кожной складки до начала лечения, мм,

d – толщина кожной складки после лечения, мм.

Измерение гематологических показателей

Образцы крови крыс для гематологических исследований отбирались из хвостовой вены в объеме 250 мкл в пробирки ЭДТА-К3 (Apexlab, Россия). Затем кровь анализировали на гематологическом анализаторе BC-3200 vet (Myndrey, Китай).

Гистологические исследования

Материал помещали в 10%-ный забуференный формалин и далее обрабатывали в аппарате гистологической проводки тканей, предварительно поместив материал «на ребро» для получения в дальнейшем срезов всей толщи кожного лоскута, и заливали в парафин. Парафиновые блоки нарезали на роторном микротоме на серийные срезы толщиной 4 мкм, затем фиксировали их на предметные стекла, покрытые полилизинным адгезивом (Mainzel Glaser, Германия), и инкубировали в термостате при 37 °С в течение 12 ч. По-

лученные препараты депарафинировали, регидратировали, окрашивали гематоксилином и эозином и заключали под покровные стекла с использованием монтирующей среды Shandon Mount.

Измерение активности миелопероксидазы

Для измерения пероксидазной активности кожный лоскут иссекали в области раны и гомогенизировали в ручном гомогенизаторе Поттера в 0,15 М растворе хлорида натрия. После центрифугирования полученных гомогенатов в течение 20 мин при 3000 об/мин отделяли супернатанты и оценивали в них содержание белка методом Лоури [Lowry O.H., 1951] и пероксидазную активность по окислению о-дианизидина [Михальчик Е. В., Титкова С. М., 2006; Sun G., Zhang. Y., 2007]. Используя молярный коэффициент экстинкции $\varepsilon_{560}=20040 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$, рассчитывали количество окисленного о-дианизидина, образовавшегося в течение первых 5 мин реакции, и результат представляли, принимая величину, равную 1 мкмоль/5 мин, за 1 единицу (ед). Активность МПО выражали в пересчете на белок в супернатанте гомогената (ед/г).

2.6.3. Исследование ранозаживляющей активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели линейной раны

Исследования ранозаживляющей активности полученного лиофилизата водного извлечения караганы проведены с использованием модели линейной раны согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.).

Эксперименты осуществляли на 40 аутбредных белых крысах-самцах массой 200–220 г. После завершения 14-дневного карантина все животные были случайным образом разделены на группы (табл. 6).

Группы исследуемых животных

№ группы	Название группы	Описание группы
1	Интактная n=10	Крысы не подвергались хирургическому вмешательству, и им не наносили исследуемые препараты
2	Контрольная n=10	Крысам с линейной раной наносили аппликации дистиллированной водой
3	Опытная n=10	Крысам с линейной раной наносили аппликации ЛВИК в виде раствора для местного применения
4	Сравнения n=10	Крысам с линейной раной наносили аппликации метилурациловой мазью (ОАО «Нижфарм», Россия)

В первый день эксперимента всем животным, кроме интактных, на предварительно выбритый участок спины по специальному трафарету однократным скальпелем наносилась линейная рана длиной 3 см и глубиной до собственной фасции. Рана представляла собой продольный разрез кожи и подкожной жировой клетчатки по средней линии спины. После выполнения разреза края раны сближали, накладывая 2 шва на равном расстоянии друг от друга, что обеспечивало регенерацию раны от краев к центру.

Все оперативные вмешательства на животных осуществлялись под наркозом. В качестве анестезирующего вещества использовали разрешенный на территории РФ диссоциативный анестетик «Золетил 100» (тилетамин гидрохлорид + золазепам гидрохлорид) (Virbac, Франция) в комбинации с «Рометаром» (ксилазин) (Bioveta, Чешская республика).

Лиофилизат водного извлечения караганы применяли согласно литературным данным об использовании растения в этномедицине – в дозе 10 мг в виде 10%-ного раствора, что соответствует отвару, приготовленному в соотношении 1:10 [Телятьев В.В., 1976]. Свежеприготовленный раствор наносили на пораженный участок кожи микропипеткой в объеме 500 мкл. Животные группы сравнения получали аппликации метилурациловой мази в дозе, рекомендованной производителем, – 1 г. Контрольные животные получали анало-

гичные по объему и месту нанесения аппликации дистиллированной водой. Продолжительность исследования составляла 8 суток с ежедневным нанесением исследуемых препаратов. На 9-е сутки всех животных выводили из эксперимента с последующим взятием образцов кожного лоскута для исследования тензиометрии.

В ходе эксперимента для оценки эффективности ускорения восстановительных процессов после нанесения линейной раны были использованы:

- морфологические показатели заживления раны (формирование рубца раны, воспалительная инфильтрация в области раны);
- длина раневой поверхности в см;
- оценка скорости эпителизации раны в баллах по шкале:
0 баллов – отсутствие эпителизации, 1 балл – начало эпителизации с краев раны, 2 балла – эпителизация более 50% раневой поверхности, 3 балла – полная эпителизация раны [Костырко Я.А., Алексеев К.В., 2014].

Дополнительным критерием патологического воспалительного процесса служило появление у животных гнояного отделяемого из раны.

Указанные параметры фиксировали ежедневно после индукции патологии в течение 9 суток лечения. После окончания периода лечения оценивалась тензиометрия участка кожи (раневого рубца), на который наносилась линейная рана.

Оценка тензиометрии раневого рубца

У подвергнутых эвтаназии животных вырезали участок раневой поверхности кожи с участком рубца длиной 1 см и шириной 3 см (по 1,5 см в обе стороны от рубца). С помощью модифицированных аптечных весов определяли прочность рубца на разрыв, добавляя груз увеличивающейся массы, воздействующий своим весом на лоскут кожи. Данные тензиометрических измерений для животных из разных групп подвергали статистической обработке и сравнивали между собой.

2.6.4. Исследование капилляропротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели ксилоловых петехий

Исследования капилляропротекторной активности полученного лиофилизированного водного извлечения караганы проведены на модели ксилоловых петехий согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.).

Эксперименты осуществляли на 40 аутбредных белых крысах-самцах массой 200–220 г. После завершения 14-дневного карантина все животные были случайным образом разделены на группы (табл. 7).

Таблица 7

Группы исследуемых животных

№ группы	Название группы	Описание группы
1	Интактная n=10	Крысам не вызывали поражения капилляров и не вводили исследуемые препараты
2	Контрольная n=10	Крысам на фоне поражения капилляров внутрижелудочно вводили дистиллированную воду
3	Опытная n=10	Крысам на фоне поражения капилляров внутрижелудочно вводили раствор ЛВИК, разведенного дистиллированной водой
4	Сравнения n=10	Крысам на фоне поражения капилляров внутрижелудочно вводили водный раствор измельченных таблеток «Аскорутин» (аскорбиновая кислота + рутозид) (ЗАО «Вифитех», Россия)

Всем животным до начала эксперимента депилировали переднюю брюшную стенку. В течение 5 суток животным всех групп, кроме интактной, вводили исследуемые препараты. Крысам опытной группы вводили раствор ЛВИК в дозе 308 мг/кг объемом 1,5 мл в пересчете на сухой остаток. Крысам группы сравнения вводили раствор «Аскорутин» в рекомендованной производителем дозе – 100 мг/кг. На 6-е сутки эксперимента всем животным, кро-

ме интактной группы, внутривенно вводили 300 мкл 0,3%-ного водного раствора красителя трипанового синего («Биолот», Россия). Через 10 мин на кожу животных наносили 20 мкл ксилола. Далее регистрировали время появления первых петехий и их отчетливого окрашивания. Интенсивность и скорость появления окраски пораженного участка отражала степень поражения капилляров.

2.7. Методы исследования гепатопротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом

Исследование гепатопротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой проведено с использованием модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом, согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.).

Эксперименты осуществляли на 40 аутбредных белых крысах-самцах Wistar массой 200–220 г. После завершения 14-дневного карантина все животные были случайным образом разделены на группы (табл. 8).

Таблица 8

Группы исследуемых животных

№ группы	Название группы	Описание группы
1	Интактная n=10	У крыс не вызывали острый гепатит и не вводили исследуемые препараты
2	Контрольная n=10	Крысам с острым гепатитом внутрижелудочно вводили дистиллированную воду
3	Опытная n=10	Крысам с острым гепатитом внутрижелудочно вводили раствор ЛВИК, разведенного дистиллированной водой.
4	Сравнения n=10	Крысам с острым гепатитом внутрижелудочно вводили водный раствор измельченных таблеток «Карсила» (экстракт сухой расторопши пятнистой) (Sopharma, Болгария)

Продолжительность исследования составила 14 суток. Введение исследуемых веществ животным проводили по схеме «профилактика + лечение». В течение 7 суток животным опытной группы и группы сравнения внутрижелудочно вводились исследуемые препараты. Опытной группе вводили раствор ЛВИК в дозе 308 мг/кг в пересчете на сухой остаток в объеме 1,5 мл. Группе сравнения вводили раствор измельченных таблеток «Карсил» в рекомендованной дозе 140 мг/кг в объеме 1,5 мл. Контрольной группе вводили дистиллированную воду. На 7-е сутки исследования животным всех групп, кроме интактных, через 1 ч после введения препаратов индуцировали острый гепатит. Для индукции острого гепатита использовали парацетамол (ЗАО «Аптеки 36,6», Россия) в дозе 1000 мг/кг, 1 раз/сутки. После индукции патологии следующие 7 суток животные получали исследуемые препараты в тех же дозах.

На 15-е сутки всех животных выводили из эксперимента с взятием образцов печени для гистологических исследований и исследования антиоксидантной активности.

Измерение гематологических показателей

Для оценки функционального состояния печени определяли биохимические показатели крови исследуемых животных: АЛТ, АСТ, ЩФ, холестерин, общий билирубин.

Образцы крови крыс отбирались из хвостовой вены в объеме 250 мкл на 8-е (после индукции гепатита) и на 13-е сутки исследования (перед завершением исследования). Кровь центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин и отбирали сыворотку. Значения биохимических показателей в сыворотке крови определяли с использованием наборов фирмы Intermedica (США) на биохимическом анализаторе фирмы Biochem (США).

Гистологические исследования

Гистологическое исследование было выполнено на ткани печени. Производили вырезку пласта ткани печени сверху вниз. Полученную ткань раз-

мером 1,5×1,5×0,7 см помещали в 10%-ный нейтральный забуференный формалин, далее обрабатывали в аппарате гистологической проводки тканей и заливали в парафин. Парафиновые блоки нарезали на роторном микротоме на серийные срезы толщиной 4 мкм, затем фиксировали их на предметные стекла, покрытые полилизинным адгезивом (Mainzel Glaser, Германия), и инкубировали в термостате при 37 °С в течение 12 ч. Полученные препараты депарафинировали, регидратировали, окрашивали гематоксилином и эозином и заключали под покровные стекла с использованием монтирующей среды Shandon Mount.

Анализ морфологических изменений проводили с помощью балльной оценки воспаления в соответствии с индексом гистологической активности гепатита по Knodell: 0 – отсутствие воспаления, 4 – минимальное воспаление, 5–8 – небольшое воспаление, 9–12 – умеренное воспаление, 13–18 – значительное воспаление.

2.7.1. Исследование антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой методом активированной хемилюминесценции АБАП в гомогенатах печени крыс, пораженных острым гепатитом

Для определения АОА печень крыс выделяли, промывали холодным (+4 °С) физиологическим раствором и готовили 10%-ные гомогенаты (масса/объем). Для этого гомогенизировали 250 мг ткани печени в 2,25 мл холодного физиологического раствора и центрифугировали в течение 20 мин при 8000 об/мин, супернатант отделяли и использовали для дальнейших исследований.

АОА гомогенатов печени крыс определяли по ингибированию ими хемилюминесценции (ХЛ) люминола, индуцированной водорастворимыми пероксильными радикалами, образующимися при термическом разложении АБАП [Чехани Н.Р., Теселкин Ю.О., 2012]. Измерение ХЛ проводили на хе-

миллюиметре Lum-1200 (ООО «ДиСофт», Россия) с программным обеспечением PowerGraph 3,3 Professional. Реакционная среда имела следующий состав: 10 мкМ люминола (чда, «Вектон», Россия), 1 мМ ЭДТА ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, США) и 1 мМ АБАП (Aldrich, США) в 50 мМ Трис-HCl буфере, содержащем 0,14 М хлорида натрия, pH 8,0. В качестве стандартного антиоксиданта использовали тролокс. АОА печени крыс выражали в виде «тролоксового эквивалента» – в микромолях тролокса (Sigma, США) на 1 г сырой ткани.

2.8. Методы исследования гипOLIпидемической активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели экспериментальной гиперлипидемии

Исследования гипOLIпидемической активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой проведены с использованием модели экспериментальной гиперлипидемии, вызванной масляным раствором Твин-80 (Panreac, США), согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (2012 г.).

Эксперименты осуществляли на 30 аутбредных белых крысах-самцах Wistar массой 280–320 г. После завершения 14-дневного карантина все животные были случайным образом разделены на группы (табл. 9).

Таблица 9

Группы исследуемых животных

№ группы	Название группы	Описание группы
1	Интakтная n=10	У крыс не вызывали гиперлипидемию и не вводили исследуемые препараты
2	Контрольная n=10	Крысам с гиперлипидемией внутрижелудочно вводили дистиллированную воду
3	Опытная n=10	Крысам с гиперлипидемией внутрижелудочно вводили водный раствор ЛВИК

За 10 суток до индукции гиперлипидемии животным опытной группы внутрижелудочно вводили раствор ЛВИК в дозе 308 мг/кг в пересчете на сухой остаток и в объеме 1,5 мл, животные контрольной группы получали эквивалентные порции дистиллированной воды. Гиперлипидемию вызывали внутрибрюшинным введением Твин-80. С этой целью животных на 12 ч лишали доступа к корму. После пищевой депривации крысам внутрибрюшинно вводили 1,25 мл/кг Твин-80, нагретого до 35 °С. На следующие сутки образцы крови крыс отбирались из хвостовой вены в объеме 250 мкл. Кровь центрифугировали при 2800 об/мин в течение 10 мин и отбирали плазму. Значения биохимических показателей (общего холестерина и триацилглицеридов) в плазме крови определяли с использованием наборов фирмы Intermedica (США) на биохимическом анализаторе фирмы Biochem (США).

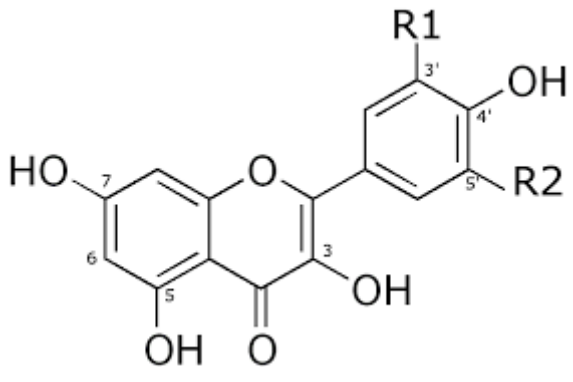
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ *IN VITRO*

3.1. Результаты исследования флавоноидов в лиофилизированном водном извлечении караганы гривастой методом ВЭЖХ с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детектированием

С помощью ВЭЖХ-ДМД-МС нами впервые был получен профиль флавоноидов караганы гривастой. Результаты исследования содержания и состава флавоноидов в образцах водных извлечений караганы гривастой (сборы 2010 и 2015 гг.) представлены в табл. 11.

ВЭЖХ-ДМД-МС-анализ показал, что в водных извлечениях караганы гривастой содержатся преимущественно моно- и дигликозиды, являющиеся производными О-гидроксилированных флавонолов (мирицетина, кверцетина, кемпферола) и О-метилованных флавонолов (изорамнетина, ларицитрина и сирингетина). Структуры вышеперечисленных флавонолов представлены в табл. 10. Хроматограммы водных извлечений караганы сборов 2010 и 2015 гг. изображены на рис. 2–7. Спектр поглощения флавонона № 31 показан на рис. 8.

Структуры основных флавонолов, гликозиды которых обнаружены в карагане гривастой

	Название	R1	R2
	Кемпферол	H	H
	Кверцетин	OH	H
	Изорамнетин	OCH ₃	H
	Мирицетин	OH	OH
	Ларицитрин	OCH ₃	OH
	Сирингетин	OCH ₃	OCH ₃

В качестве основных флавоноидов в водных извлечениях караганы гривастой (сборы 2010 и 2015 гг.) были идентифицированы кверцитрин (4,87–6,03 мг/г), гиперозид (2,73–3,73 мг/г), мирицетин-3-рамнозид (2,01–2,04 мг/г), авикулярин (1,72–2,39 мг/г), ларицитрин-3-рамнозид (1,71–1,79 мг/г), 3-рамнозиды изорамнетина и сирингетина (1,76–1,77 мг/г). Как видно из табл. 3, для караганы гривастой характерно наличие 3-рамнозидов, пентозидов (в том числе 3-арабиноидов и 3-ксилозидов) и софорозидов/3,5-диглюкозидов вышеперечисленных флавонолов. В исследованных экстрактах также присутствовало незначительное количество производных флавонов – дигликозид апигенина и гликозиды диметилированного флавона. Суммарное содержание флавоноидов караганы гривастой в сборе 2010 г. составило 27,15 мг/г, в сборе 2015 г. – 31,27 мг/г.

Метрологическая характеристика результатов исследования профиля флавоноидов в водных извлечениях караганы гривастой на примере основных флавоноидов караганы гривастой (сбор 2015 г.) представлены в табл. 12.

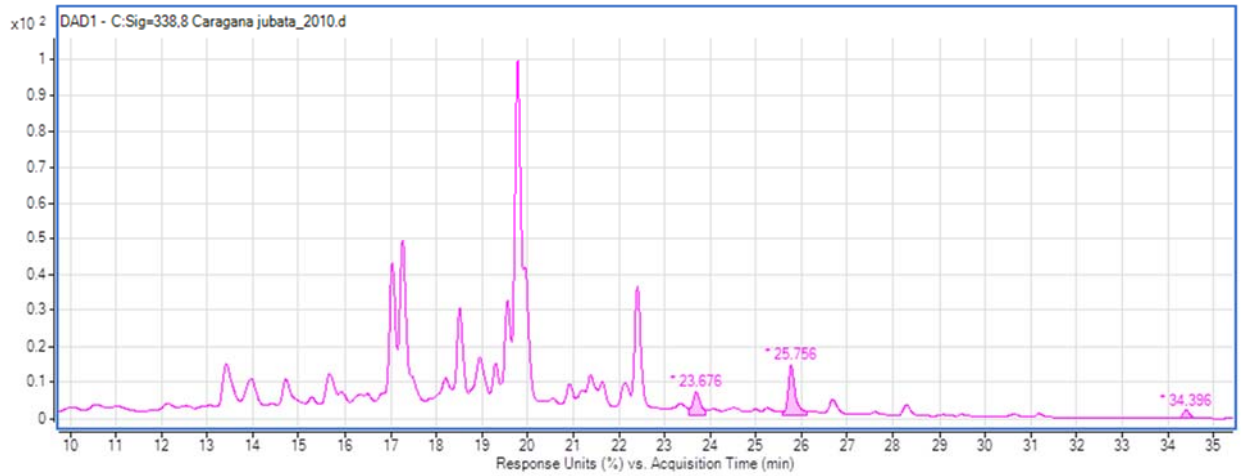


Рисунок 2. Хроматограмма водного извлечения караганы (сбор 2010 г.)
при $\lambda=339$ нм

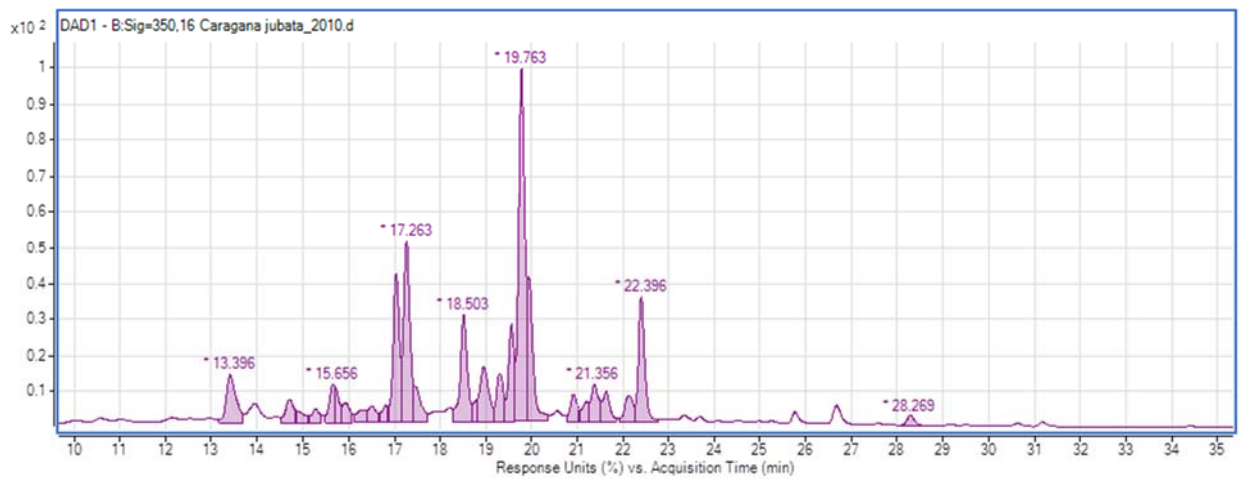


Рисунок 3. Хроматограмма водного извлечения караганы (сбор 2010 г.)
при $\lambda=350$ нм

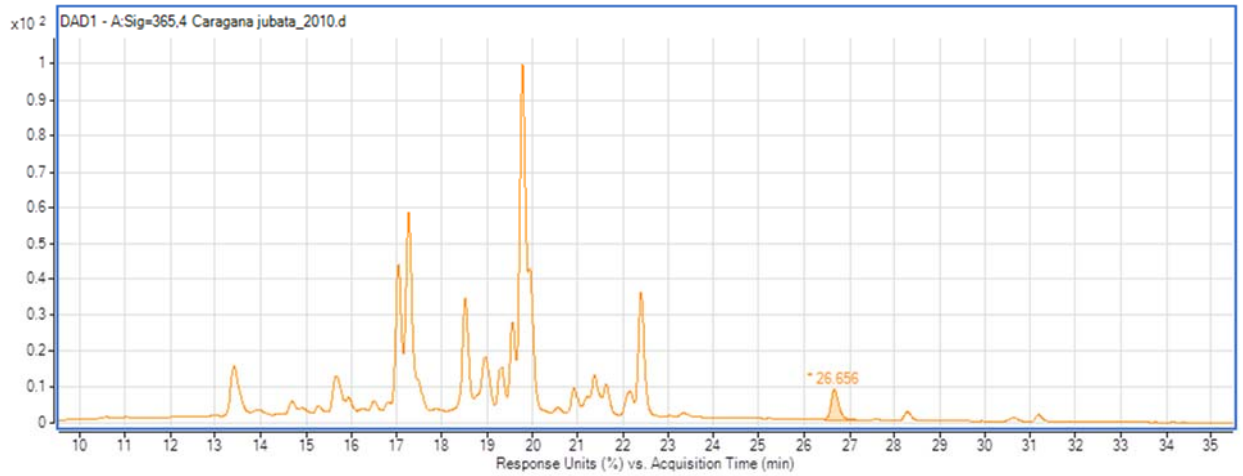


Рисунок 4. Хроматограмма водного извлечения караганы (сбор 2010 г.)
при $\lambda=365$ нм

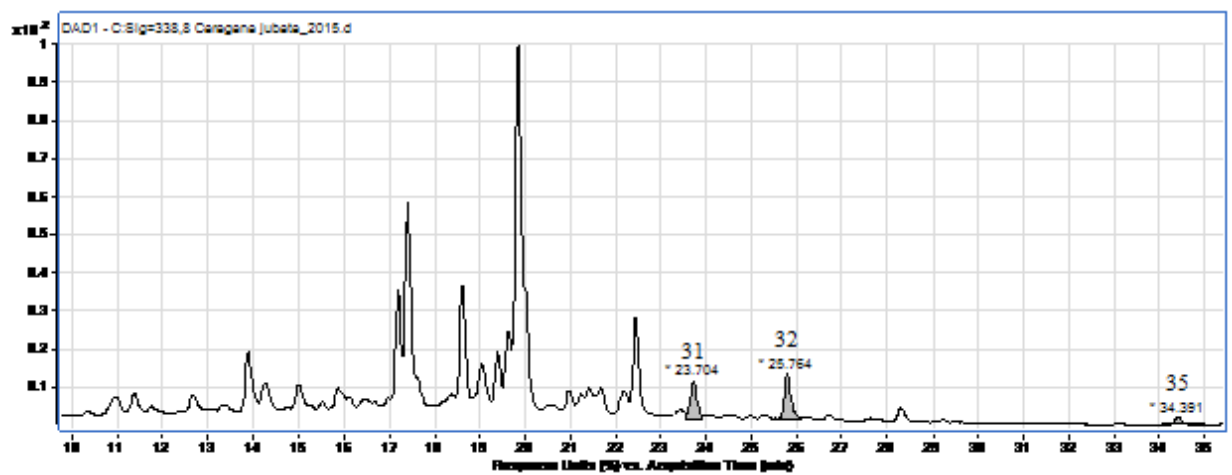


Рисунок 5. Хроматограмма водного извлечения караганы (сбор 2015 г.)
при $\lambda=339$ нм

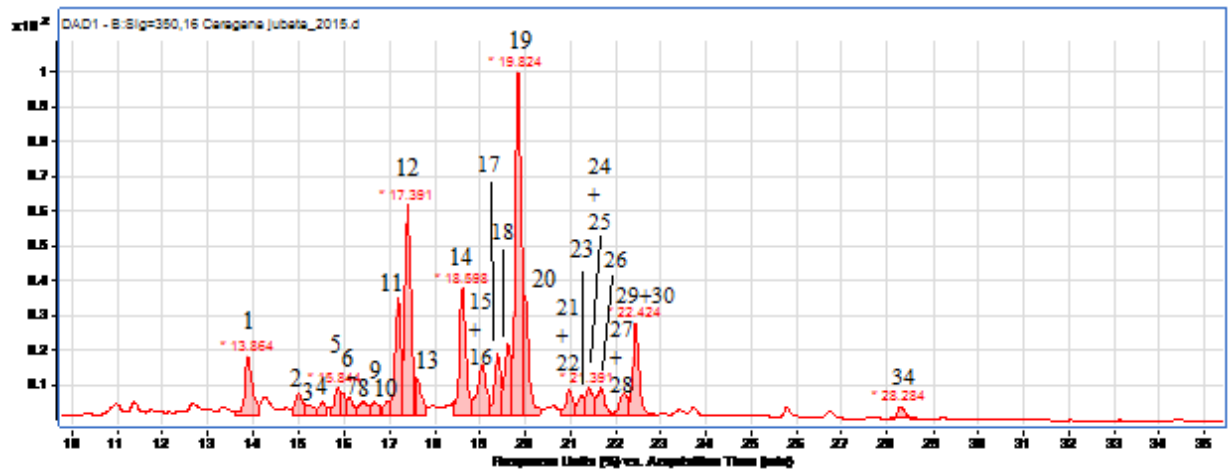


Рисунок 6. Хроматограмма водного извлечения караганы (сбор 2015 г.)
при $\lambda=350$ нм

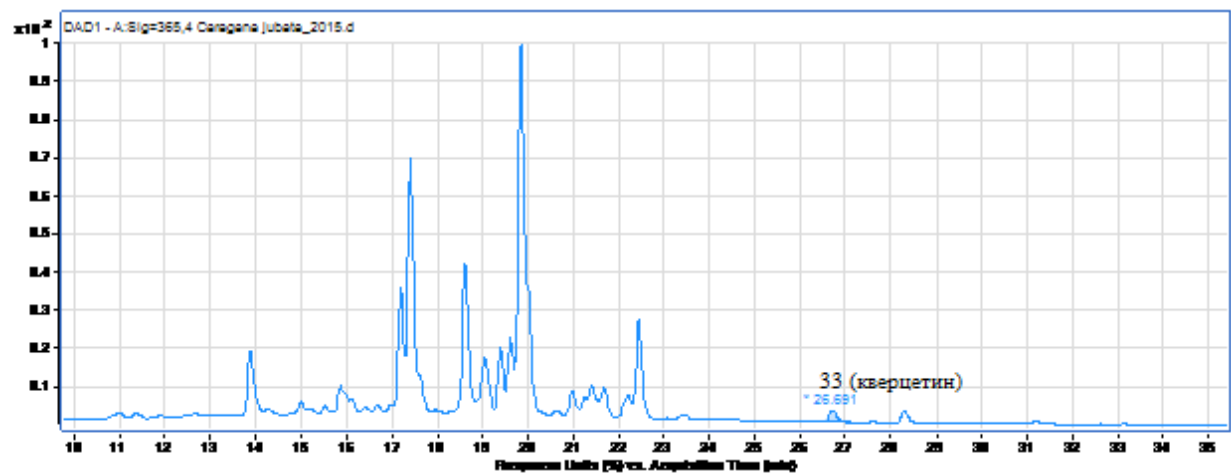


Рисунок 7. Хроматограмма водного извлечения караганы (сбор 2015 г.)
при $\lambda=365$ нм

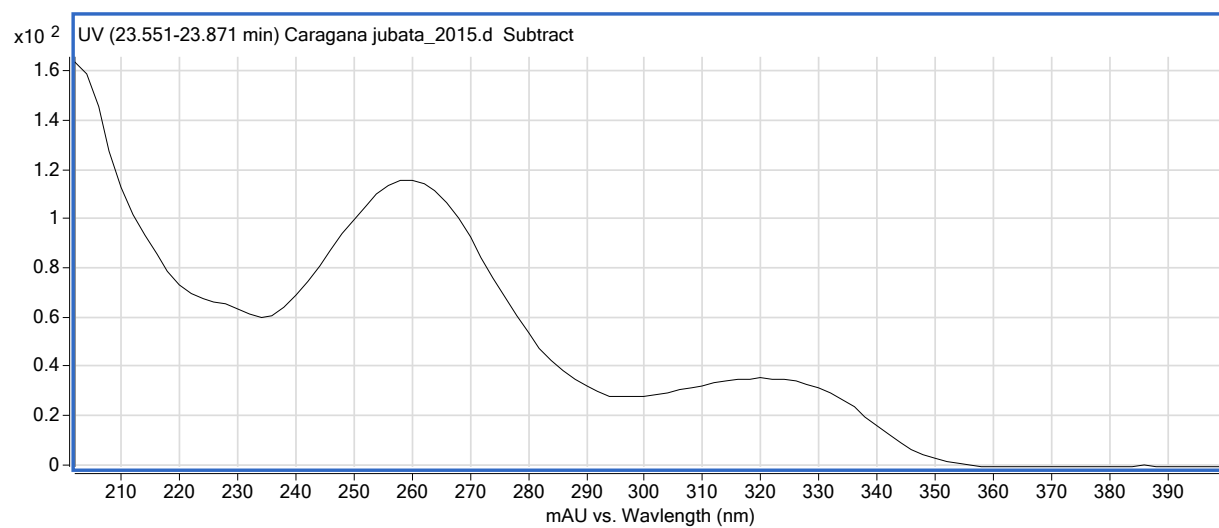


Рисунок 8. УФ-спектр глюкозида неидентифицированного флавона № 31

Таблица 11

Результаты ВЭЖХ-ДМД-МС флавоноидов в водных извлечениях караганы (сборы 2010 и 2015 гг.)

№	Флавоноид	k*	m/z	Детектируемый ион	$\lambda_{\max}$, нм	Содержание, мг/г	
						Сбор 2010 г.	Сбор 2015 г.
1.	Кверцетин-3-софорозид или кверцетин-3,5-диглюкозид	1,82	627.15 465.10 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза}^{**} + H]^+$ $[M - 2 \text{ глюкозы} + H]^+$	256, 268, 356	1,46	1,72
2.	Мирицетин-3-галактозид	2,05	481.10 319.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{галактоза} + H]^+$	254, 268, 362	0,49	0,48
3.	Мирицетин-3-глюкозид	2,09	481.10 319.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$	254, 268, 362	0,22	0,23
4.	Кемпферол-3-софорозид или кемпферол-3,5-диглюкозид	2,15	611.16 449.11 287.06	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$ $[M - 2 \text{ глюкозы} + H]^+$	268, 348	0,33	0,35
5.	Изорамнетин-3-софорозид или изорамнетин-3,5-диглюкозид	2,22	641.17 479.12 317.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$ $[M - 2 \text{ глюкозы} + H]^+$	254, 268, 358	0,65	0,59
6.	Мирицетин-пентозид	2,23	451.09 319.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	254, 268, 362	0,31	0,31
7.	Кверцетин-3-самбубиозид	2,27	597.15 465.10 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$ $[M - \text{самбубиоза} + H]^+$	256, 266, 354	0,41	0,43
8.	Рутин	2,33	611.15 465.10 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$ $[M - \text{рутиноза} + H]^+$	256, 266, 352	0,37	0,49

№	Флавоноид	k*	m/z	Детектируемый ион	$\lambda_{\max}$, нм	Содержание, мг/г	
						Сбор 2010 г.	Сбор 2015 г.
9.	Мирицетин-3-арабинозид	2,39	451.09 319.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{арабиноза} + H]^+$	254, 268, 364	0,29	0,29
10.	Мирицетин-3-ксилозид	2,45	451.09 319.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{ксилоза} + H]^+$	254, 268, 364	0,23	0,30
11.	Мирицетин-3-рамнозид (мирицитрин)	2,49	465.10 319.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{рамноза} + H]^+$	254, 268, 362	2,04	2,01
12.	Гиперозид	2,53	465.10 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{галактоза} + H]^+$	256, 266, 354	2,73	3,73
13.	Изокверцитрин	2,57	465.10 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$	256, 266, 354	0,56	0,56
14.	Кверцетин-3-арабинозид (авикулярин)	2,78	435.09 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{арабиноза} + H]^+$	256, 266, 356	1,72	2,39
15.	Кемпферол-3-глюкозид (астрагалин)	2,87	449.11 287.06	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$	268, 348	1,48	1,71
16.	Ларицитрин-пентозид		435.10 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	256, 266, 352		
17.	Кверцетин-пентозид	2,94	435.10 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	256, 266, 352	0,65	1,11
18.	Изорамнетин-3-глюкозид	2,98	479.12 317.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{глюкоза} + H]^+$	256, 266, 348	1,23	1,10
19.	Кверцитрин	3,03	449.11 303.05	$[M+H]^+$ $[M - \text{рамноза} + H]^+$	256, 266, 350	4,87	6,03

№	Флавоноид	k*	m/z	Детектируемый ион	$\lambda_{\max}$, нм	Содержание, мг/г	
						Сбор 2010 г.	Сбор 2015 г.
20.	Ларицитрин-3-рамнозид	3,06	479.12 333.06	$[M+H]^+$ $[M - \text{рамноза} + H]^+$	256, 266, 350	1,71	1,79
21.	Кемпферол-пентозид	3,26	419.11 287.06	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	266, 359	0,56	0,65
22.	Апигенин + гексоза + пентоза		565.12 271.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	266, 340		
23.	Изорамнетин-3-малонилглюкозид	3,31	565.12 317.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{малонилглюкоза} + H]^+$	254, 266, 362	0,30	0,38
24.	Изорамнетин-пентозид	3,35	449.11 317.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	256, 266, 362	0,63	0,62
25.	Сирингетин-пентозид		479.12 347.08	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$			
26.	Изорамнетин-пентозид	3,40	449.11 317.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	256, 266, 370	0,50	0,64
27.	Кемпферол-3-рамнозид	3,51	433.12 287.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{рамноза} + H]^+$	268, 348	0,66	0,73
28.	Изорамнетин-пентозид		449.11 317.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{пентоза} + H]^+$	254, 266, 350		
29.	Изорамнетин-3-рамнозид	3,56	463.13 317.07	$[M+H]^+$ $[M - \text{рамноза} + H]^+$	256, 266, 348	1,76	1,77
30.	Сирингетин-3-рамнозид		493.13 347.08	$[M+H]^+$ $[M - \text{рамноза} + H]^+$			

№	Флавоноид	k*	m/z	Детектируемый ион	$\lambda_{\max}$, нм	Содержание, мг/г	
						Сбор 2010 г.	Сбор 2015 г.
31.	Флаван-(1 гидрокс + 2 метокси- группы)-глюкозид	3,82	461.15 299.09	[M+H] ⁺ [M – глюкоза +H] ⁺	260, 320	0,19	0,24
32.	Флаван-(1 гидрокс + 2 метокси- группы)-малонилглюкозид	4,24	547.15 299.09	[M+H] ⁺ [M – малонилглюкоза +H] ⁺	260, 320	0,31	0,29
33.	Кверцетин	4,43	303.05	[M+H] ⁺	256, 266, 374	0,26	0,10
34.	Неидентифицированные флавоноиды	4,75	341.13 357.13	[M+H] ⁺ [M+H] ⁺	230, 284, 348	0,15	0,16
35.	Флаван-(1 гидрокс + 2 метокси- группы)	6,11	299.09	[M+H] ⁺	258, 320	0,08	0,07
Суммарное содержание флавоноидов						27,15	31,27

Согласно определенным метрологическим характеристикам методики анализа флавоноидов, относительная систематическая погрешность измерений для всех флавоноидов не превышала 8,2%.

* Фактор удерживания (коэффициент емкости).

** Остаток моно- или дисахарида: молекулярная масса минус 18 а.е.м. (молекула воды, теряющаяся при образовании гликозидной связи).

**Метрологическая характеристика результатов определения
основных флавоноидов в водном извлечении караганы гривастой
(сбор 2015 г.) методом ВЭЖХ-ДМД-МС (P = 95 %; n = 4)**

Флавоноид	f	$\bar{x}$, мг/г	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	t(P,t)	Δx	$\Delta \bar{x}$	ε , %
Кверцетин-3-софорозид или кверцетин-3,5-диглюкозид	3	1,72	0,0015	0,0392	0,0196	3,18	0,12	0,06	3,62
Мирицетин-3-рамнозид (мирицитрин)	3	2,01	0,0010	0,0316	0,0158	3,18	0,10	0,05	2,50
Гиперозид	3	3,73	0,0019	0,0432	0,0216	3,18	0,14	0,07	1,84
Кверцетин-3-арабинозид (авикулярин)	3	2,39	0,0013	0,0356	0,0178	3,18	0,11	0,06	2,37
Кверцитрин	3	6,03	0,0030	0,0548	0,0274	3,18	0,17	0,09	1,44
Ларицитрин-3-рамнозид	3	1,79	0,0030	0,0548	0,0274	3,18	0,09	0,04	2,43

**3.2. Результаты исследования антиоксидантной активности
лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой
методом активированной хемилюминесценции АБАП *in vitro***

На рис. 9 показана типичная кинетика хемилюминесценции системы АБАП-люминол при добавлении к ней исследуемых образцов из изучаемых растений. На рисунке видно, что введение образцов в модельную систему приводило к ингибированию свечения и появлению латентного периода (τ). Появление латентного периода ХЛ связано с тем, что антиоксиданты, входящие в состав растительного сырья, перехватывают пероксильные радикалы, образующиеся при термическом разложении АБАП, что вызывает торможение окисления люминола. Как только все антиоксиданты инактивируются,

латентный период заканчивается, и процесс окисления люминола продолжается.

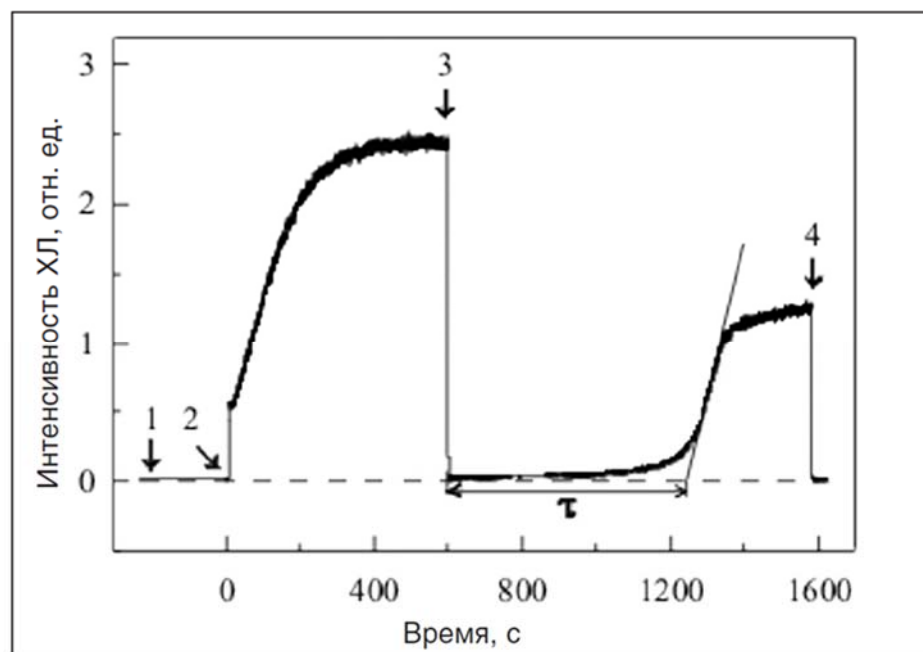


Рисунок 9. Типичная кинетика ХЛ системы АБАП-люминол в присутствии исследуемых образцов водного извлечения

- 1, 4 – открытие и закрытие шторки хемилюминометра соответственно;
 2 – введение АБАП; 3 – введение исследуемого образца;
 τ – латентный период.

Обнаружено, что латентный период ХЛ системы АБАП-люминол увеличивался прямо пропорционально концентрации исследуемых образцов. Аналогичная зависимость была получена и для тролокса, который является водорастворимым структурным аналогом витамина Е и обычно применяется в качестве стандартного антиоксиданта при проведении подобных исследований. Антиоксидантную активность растительного сырья вычисляли, исходя из отношения тангенсов угла наклона прямых, полученных для соответствующих образцов водных извлечений и тролокса.

АОА караганы гривастой, ммоль/г ($M \pm m$): водное извлечение из сбора 2010 г.: $35,50 \pm 1,366$, из сбора 2015 г.: $43,73 \pm 2,486$.

Полученный нами с помощью ВЭЖХ-ДМД-МС профиль флавоноидов караганы гривастой представлен в основном флавонолгликозидами – кверцитрином, гиперозидом, мирицитрином, авикулярином, ларицитрин-3-рамнозидом. Определена антиоксидантная активность водных извлечений караганы гривастой из сырья 2010 и 2015 гг. методом активированной хемилюминесценции АБАП *in vitro*. Также отмечено, что при стандартных условиях хранения изменения в химическом составе сырья (сравнивались сборы 2010 и 2015 гг.) и в антиоксидантной активности носили незначительный характер.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО ВОДНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ КАРАГАНЫ ГРИВАСТОЙ

4.1. Токсикологические исследования лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

4.1.1. Результаты исследования острой токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

Однократное введение максимальной технически возможной дозы (7000 мг/кг) не вызвало гибели животных. Таким образом, можно сделать вывод, что согласно ГОСТ 12.1.007-76 исследуемое вещество соответствует 4-му классу опасности «Вещества малоопасные». Класс токсичности вещества в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития (OECD) – VI, вещество относительно безвредно. Результаты исследования острой токсичности представлены в табл. 13.

Таблица 13

Определение острой токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

Доза (мг/кг)	626	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000
Кол-во вы- живших животных	6	6	6	6	6	6	6	6
Z	0	0	0	0	0	0	0	0
D	374	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
D/Z	0	0	0	0	0	0	0	0

Z – показатель разницы между количеством погибших животных при использовании двух соседних доз; D – показатель разницы между количеством двух соседних доз.

4.1.2. Результаты исследования острой накожной токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

Результаты исследования острой накожной токсичности ЛВИК представлены в табл. 14. Однократное нанесение максимальной дозы (7000 мг/кг) не вызвало гибели животных. Таким образом, можно сделать вывод, что согласно ГОСТ 12.1.007-76 исследуемое вещество соответствует 4-му классу опасности «Вещества малоопасные». Класс токсичности вещества в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического содействия и развития (OECD) – VI, т. е. вещество относительно безвредно.

Таблица 14

Определение острой накожной токсичности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

Доза (мг/кг)	626	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000
Кол-во выживших животных	6	6	6	6	6	6	6	6
Z	0	0	0	0	0	0	0	0
D	374	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
D/Z	0	0	0	0	0	0	0	0

Z – показатель разницы между количеством погибших животных при использовании двух соседних доз; D – показатель разницы между количеством двух соседних доз.

4.2. Исследование дерматотропной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой

4.2.1. Результаты исследования противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при накожном применении на модели контактного дерматита

В ходе эксперимента было выявлено, что спустя 4 суток после нанесения однократных аппликаций раствором 2,4-ДНХБ у исследуемых животных

сформировался локальный очаг воспаления со всеми признаками развития контактного дерматита (табл. 15, рис. 10). Это проявилось появлением плотных геморрагических корок.

Таблица 15

**Влияние изучаемых средств на течение
модельного контактного дерматита у крыс, $M \pm m$ (n=10)**

Группа	Тяжесть поражения, баллы	Толщина кожной складки, мм
После нанесения 2,4-динитрохлорбензола в течение 4 суток		
Контрольная	$4,96 \pm 0,18^*$	$7,73 \pm 0,80^*$
Опытная	$4,97 \pm 0,23^*$	$7,68 \pm 0,78^*$
Сравнения	$4,95 \pm 0,21^*$	$7,71 \pm 0,78^*$
Интактная	0	$2,5 \pm 0,32$
7-е сутки исследования		
Контрольная	$4,56 \pm 0,15^*$	$6,81 \pm 0,76^*$
Опытная	$3,54 \pm 0,22^{*,**}$	$5,08 \pm 0,55^{*,**}$
Сравнения	$3,50 \pm 0,32^{*,**}$	$5,18 \pm 0,34^{*,**}$
Интактная	0	$2,5 \pm 0,29$
12-е сутки исследования		
Контрольная	$3,91 \pm 0,17^*$	$5,83 \pm 0,81^*$
Опытная	$2,43 \pm 0,33^*$	$3,08 \pm 0,28^{*,**}$
Сравнения	$2,45 \pm 0,25^*$	$3,1 \pm 0,17^{*,**}$
Интактная	0	$2,5 \pm 0,31$



Рисунок 10. Состояние кожного покрова через 4 суток
после аппликаций 2,4-ДНХБ

В контрольной группе у всех животных на 7-е сутки эксперимента сохранилась картина развитой патологии. Выраженность воспаления и толщина кожной складки уменьшились незначительно (табл. 15, рис. 11).

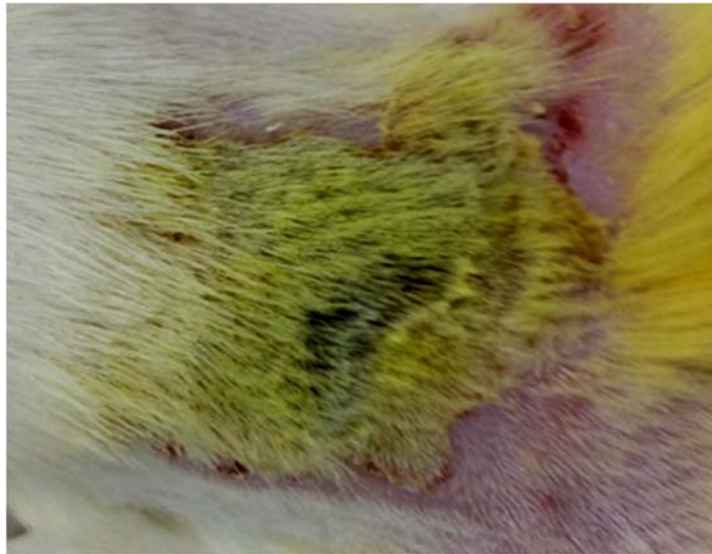


Рисунок 11. Состояние кожного покрова у животных контрольной группы на 7-е сутки эксперимента

Положительная динамика наступила на 12-е сутки исследования: очаг контактного дерматита сохранялся, но выраженность воспаления на пораженном участке кожи и толщина кожной складки существенно уменьшились по сравнению с результатами на 7-е сутки исследования (табл. 15, рис. 12).

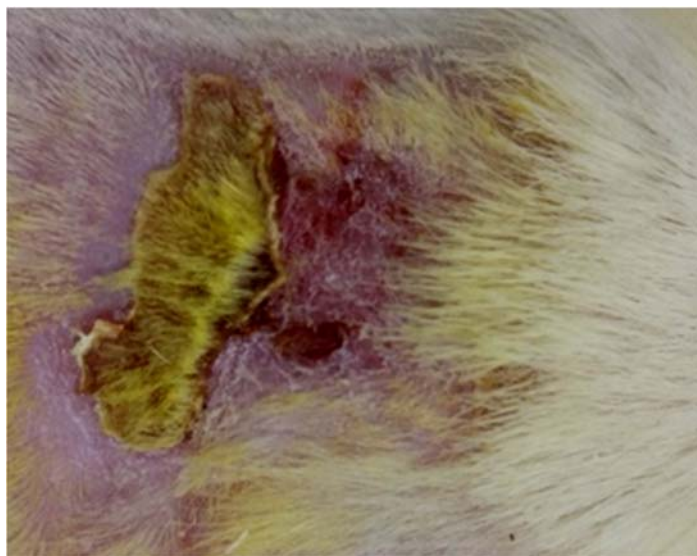


Рисунок 12. Состояние кожного покрова у животных контрольной группы на 12-е сутки эксперимента

У животных опытной группы и группы сравнения на 7-е сутки эксперимента была отмечена положительная динамика. Толщина кожной складки и выраженность воспаления значительно уменьшились при достоверной разнице с контрольной группой по обоим показателям (табл. 15, рис. 13, 14).

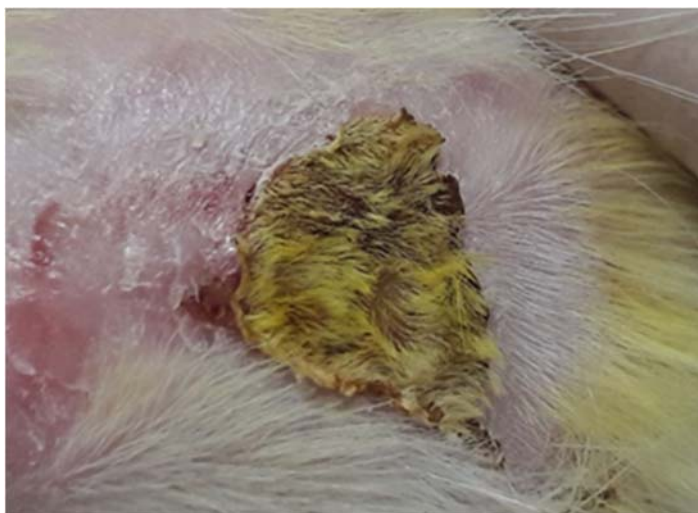


Рисунок 13. Состояние кожного покрова у животных опытной группы на 7-е сутки эксперимента

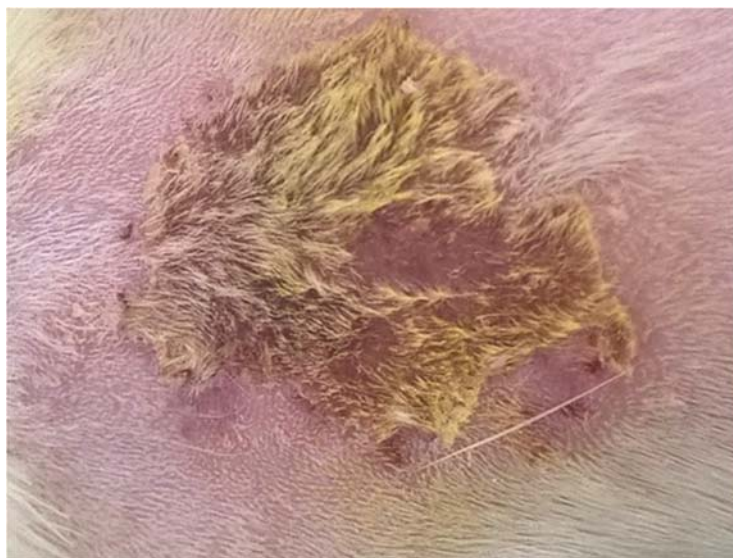


Рисунок 14. Состояние кожного покрова у животных группы сравнения на 7-е сутки эксперимента

На 12-е сутки эксперимента у животных опытной группы и группы сравнения наблюдалась регенерация пораженного участка кожи, но сохранялись единичные покраснения без геморрагических корок и отека кожи. Вы-

раженность воспаления и толщина кожной складки достоверно отличались от показателей контрольной группы (табл. 15, рис. 15, 16). Несмотря на то, что оба параметра характеризовали тяжесть контактного дерматита, у животных опытной группы и группы сравнения достоверное отличие на 7-е и 12-е сутки эксперимента было выше, чем у интактной группы, однако наблюдалось их достоверное снижение по сравнению с контрольной группой. Показатели опытной группы и группы сравнения достоверно не отличались, что говорит о сопоставимом действии препаратов.



Рисунок 15. Состояние кожного покрова у животных опытной группы на 12-е сутки эксперимента



Рисунок 16. Состояние кожного покрова у животных группы сравнения на 12-е сутки эксперимента

Результаты гематологических исследований

В начале исследования у всех животных, пораженных контактным дерматитом, наблюдалась реакция на воспалительный процесс, что проявлялось достоверным увеличением СОЭ в 3 раза, лейкоцитозом и сдвигом лейкоцитарной формулы влево (показатели сегментоядерных нейтрофилов увеличивались на 16%, а лимфоцитов – снижались на 17%). На 7-е сутки у животных опытной группы и группы сравнения все показатели незначительно улучшились. В последние сутки исследования у животных контрольной группы еще наблюдались явления лейкоцитоза (количество лейкоцитов было выше, чем в интактной группе, на 37%). Также сохранялся сдвиг лейкоцитарной формулы влево (сегментоядерные нейтрофилы были повышены на 10%, а лимфоциты уменьшены на 13%). Все показатели крови опытной и группы сравнения достоверно не отличались от показателей интактных животных (табл. 16).

Таким образом, было установлено, что лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой при накожном применении устраняет признаки воспалительного процесса в периферической крови животных с контактным дерматитом.

Показатели периферической крови крыс с индуцированным контактным дерматитом, $M \pm m$ (n=10)

Показатель	Группы животных									
	Интактная	После индукции КД			На 7-е сутки эксперимента			На 12-е сутки эксперимента		
		Контрольная	Опытная	Сравнения	Контрольная	Опытная	Сравнения	Контрольная	Опытная	Сравнения
СОЭ, мм/ч	2,2±0,14	6,14±0,44 [*]	6,0±0,32 [*]	6,11±0,23 [*]	5,9±0,44 [*]	4,3±0,23 ^{*,*}	4,8±0,32 ^{*,*}	3,2±0,46 [*]	3,0±0,41	2,9±0,21
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,9±0,76	12,8±0,71 [*]	12,9±0,76 [*]	11,7±0,52 [*]	12,1±0,43 [*]	10,4±0,13 ^{*,**}	10,9±0,21 ^{*,**}	9,3±0,68 [*]	7,0±0,85 ^{**}	6,9±0,72 ^{**}
Палочко-ядерные нейтрофилы, %	2,9±0,15	3,4±0,11 [*]	3,3±0,14 [*]	3,5±0,16 [*]	3,3±0,11 [*]	3,0±0,13 ^{*,*}	3,0±0,22 ^{*,*}	3,2±0,12	2,9±0,19	3,2±0,15
Сегментоядерные нейтрофилы, %	14,4±0,74	31,0±0,44 [*]	29,0±1,1 [*]	27,9±0,54 [*]	28,0±0,23 [*]	25,0±0,23 ^{*,**}	25,4±0,37 ^{*,**}	23,0±0,20 [*]	14,9±0,72 [*]	13,0±0,1 ^{**}
Базофилы, %	0,5±0,05	1,2±0,05 [*]	0,8±0,09 ^{*,**}	0,9±0,04 ^{*,**}	1,3±0,09 [*]	0,7±0,02 ^{*,*}	0,8±0,09 ^{*,*}	0,7±0,02	0,6±0,02	0,5±0,06 ^{**}
Моноциты, %	2,1±0,19	3,2±0,14 [*]	3,2±0,41 [*]	2,8±0,32	3,3±0,14 [*]	3,1±0,2 [*]	3,2±0,11 [*]	2,9±0,2 [*]	2,4±0,13	2,3±0,44
Эозинофилы, %	2,2±0,21	4,1±0,2 [*]	3,5±0,33 [*]	3,4±0,24 ^{**}	3,9±0,45 [*]	3,2±0,12 [*]	3,2±0,33 [*]	3,4±0,15 [*]	2,1±0,1 ^{**}	2,0±0,12 ^{**}
Лимфоциты, %	80,9±0,46	63,0±0,4 [*]	63,1±0,7 [*]	62,3±0,5 [*]	61±0,71 [*]	65±0,54 ^{*,*}	66,1±0,4 ^{*,*}	67±0,50 [*]	76±0,65 ^{**}	70,1±0,7 ^{*,*}

Результаты оценки противовоспалительной активности

Полученные данные показали, что изучаемое водное извлечение и препарат сравнения проявили выраженный противовоспалительный эффект при достоверном отличии от контрольной группы.

Показатели индекса ингибирования воспалительной реакции, $M \pm m$ (n=10):

- опытная группа – $(61,50 \pm 0,24^{**,\#}) \%$,
- контрольная группа – $(26,89 \pm 0,17) \%$,
- группа сравнения – $(58,68 \pm 0,45^{**}) \%$.

Результаты гистологических исследований

В образцах кожи контрольных животных были обнаружены эрозии кожи: некротический детрит с подлежащей грануляционной тканью, выраженный акантоз, паракератоз и гидропическая дистрофия. В подлежащей дерме местами обнаруживалась интенсивная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью большого количества нейтрофилов и эозинофилов, полнокровные сосуды с явлениями эритродиapedеза. В ряде случаев обнаружено острое экссудативное гнойное воспаление в сосочковом слое дермы (рис. 17).

У животных, получавших аппликации раствора ЛВИК и препарата сравнения, эрозий обнаружено не было. Был выявлен слабый акантоз и умеренный гиперкератоз. В дерме выявлен лимфоцитарный инфильтрат с небольшой примесью нейтрофилов и эозинофилов, причем инфильтрат преобладал в поверхностных слоях, также обнаружено умеренное полнокровие сосудов. Вышеуказанные изменения в коже соответствуют слабой степени выраженности контактного аллергического дерматита и воспаления (рис. 18).

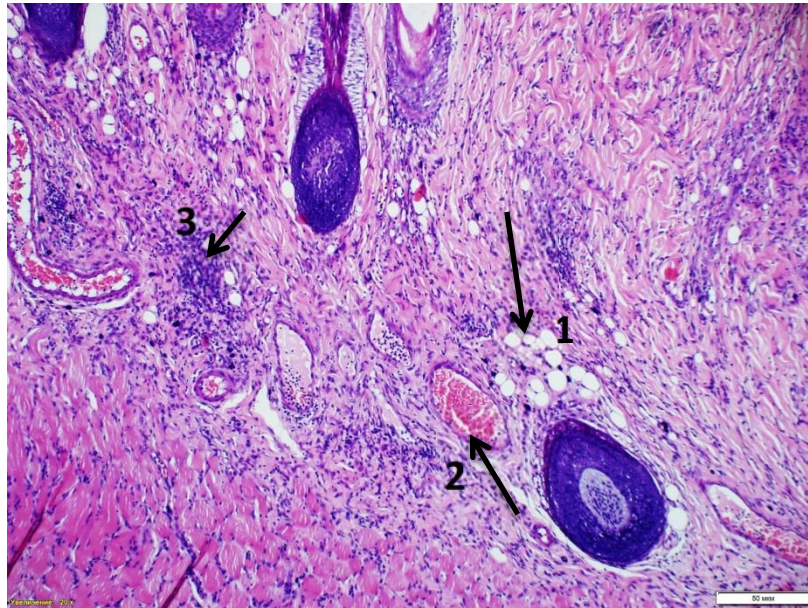


Рисунок 17. Микропрепарат кожи крысы контрольной группы (увеличение 1:200): 1 – гидропическая дистрофия, 2 – полнокровие сосудов, 3 – инфильтрация лимфоидными и гистиоцитарными элементами

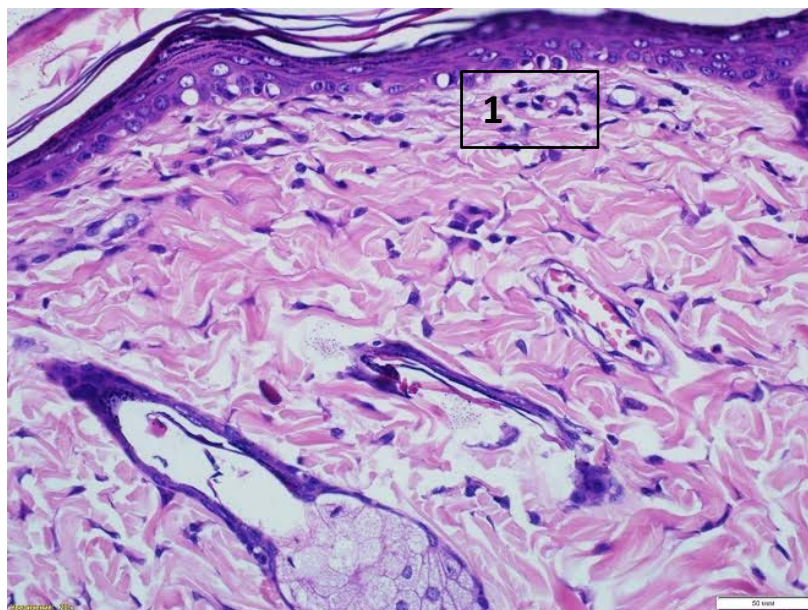


Рисунок 18. Микропрепарат кожи крысы опытной группы (увеличение 1:200):
1 – слабо выраженная инфильтрация лимфоидными
и гистиоцитарными элементами

Результаты исследования активности миелопероксидазы

В контрольной группе пероксидазная активность составляла ($22,0 \pm 3,7^*$) ед/г и достоверно превышала соответствующий показатель: в опытной группе он

составлял $(13,3 \pm 2,4^{**})$ ед/г, в группе сравнения – $(12,5 \pm 3,6^{**})$ ед/г, в интактной группе – $(9,5 \pm 2,8)$ ед/г.

Основным источником МПО в коже и ткани раны являются полиморфно-ядерные лейкоциты, участвующие в развитии местной воспалительной реакции в острый период [Михальчик Е. В., Титкова С. М., 2006]. Снижение миелопероксидазной активности также подтверждается гистологическими исследованиями: в отличие от контрольной группы, у животных опытной группы и группы сравнения в дерме не отмечалось инфильтраций полиморфноядерными лейкоцитами.

4.2.2. Результаты исследования противовоспалительной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой при пероральном применении на модели контактного дерматита

Спустя 4 суток после однократных аппликаций раствором 2,4-ДНХБ у исследуемых животных формировался локальный очаг воспаления со всеми признаками контактного дерматита и с появлением плотных геморрагических корок. Кожа вокруг очага имела отечный и гиперемизированный вид (табл. 17, рис. 19).

Таблица 17

Влияние изучаемых средств на течение контактного дерматита у крыс, $M \pm m$ (n=10)

Группа	Тяжесть поражения, баллы	Толщина кожной складки, мм
После нанесения 2,4-динитрохлорбензола в течение 4 суток		
Контрольная	$4,94 \pm 0,18^*$	$9,8 \pm 0,60^*$
Опытная	$4,94 \pm 0,33^*$	$9,7 \pm 0,48^*$
Интakтная	0	$2,5 \pm 0,38$
7-е сутки исследования		
Контрольная	$4,54 \pm 0,20^*$	$7,7 \pm 0,54^*$
Опытная	$3,68 \pm 0,19^{*,**}$	$6,0 \pm 0,17^{*,**}$
Интakтная	0	$2,5 \pm 0,42$
12-е сутки исследования		
Контрольная	$3,81 \pm 0,17^*$	$5,1 \pm 0,41^*$
Опытная	$2,21 \pm 0,38^{*,**}$	$3,1 \pm 0,18^{*,**}$
Интakтная	0	$2,5 \pm 0,37$

На 7-е сутки эксперимента у всех животных контрольной группы сохранилась картина развитой патологии. Степень воспаления и толщина кожной складки уменьшились незначительно (табл. 17, рис. 20).

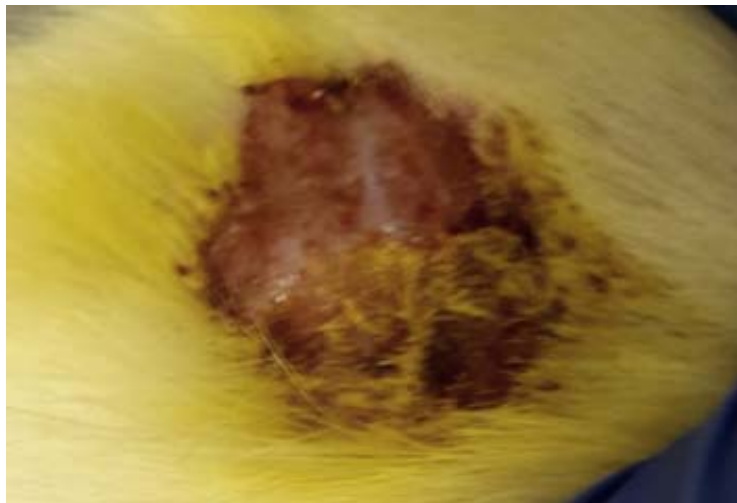


Рисунок 19. Состояние кожного покрова крысы через 4 суток после аппликаций 2,4-ДНХБ

Положительная тенденция наступила только на 12-е сутки исследования: очаги контактного дерматита сохранялись, но выраженность воспаления и толщина кожной складки на пораженном участке кожи существенно уменьшились. Однако у некоторых животных геморрагическая корка отходила не полностью (табл. 17, рис. 21).

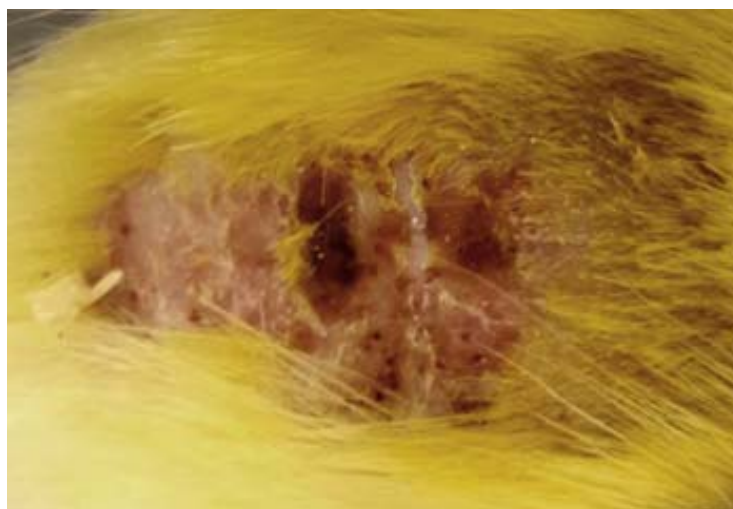


Рисунок 20. Состояние кожного покрова у животных контрольной группы на 7-е сутки эксперимента



Рисунок 21. Состояние кожного покрова у животных контрольной группы на 12-е сутки эксперимента

У животных опытной группы уже на 7-е сутки эксперимента наблюдалась положительная динамика. Толщина кожной складки и выраженность воспаления значительно уменьшились при достоверной разнице с контрольной группой по обоим показателям. У 5 животных наблюдалось частичное отторжение геморрагической корки (табл. 17, рис. 22).

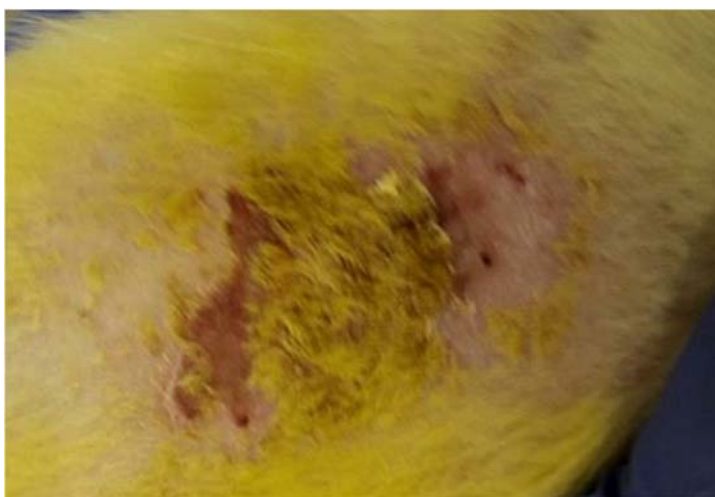


Рисунок 22. Состояние кожного покрова у животных опытной группы на 7-е сутки эксперимента

На 12-е сутки эксперимента у 8 животных из 10 наблюдалась полная регенерация пораженного участка кожи, но сохранялись единичные покраснения без геморрагических корок и отечности. Выраженность воспаления и толщина кож-

ной складки достоверно отличались от показателей контрольной группы (табл. 17, рис. 23). Несмотря на то, что оба параметра характеризовали тяжесть контактного дерматита, на 7-е и 12-е сутки эксперимента достоверное отличие в опытной группе было выше, чем в интактной, однако наблюдалось их достоверное снижение по сравнению с контрольной группой.

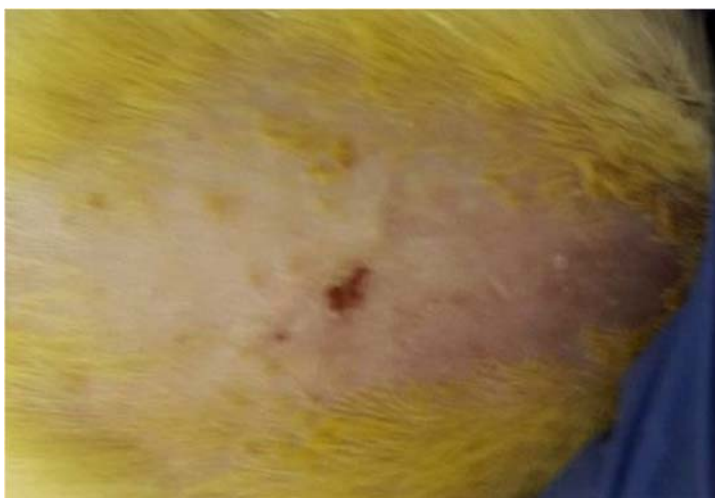


Рисунок 23. Состояние кожного покрова у животных опытной группы на 12-е сутки эксперимента

Результаты гематологических исследований

В начале исследования у всех животных, пораженных контактным дерматитом, наблюдались типичные признаки воспалительной реакции: достоверное увеличение СОЭ в 4,5 раза, лейкоцитоз и сдвиг лейкоцитарной формулы влево (доля сегментоядерных нейтрофилов увеличивалась на 18%, а лимфоцитов – снижалась на 17%). На 7-е сутки в группе животных, получавших раствор ЛВИК, все показатели незначительно улучшились. В последний день исследования у животных контрольной группы еще наблюдались явления лейкоцитоза (количество лейкоцитов в контрольной группе было выше, чем в интактной, на 30%). Также сохранялся сдвиг лейкоцитарной формулы влево (количество сегментоядерных нейтрофилов было повышено на 6%, а лимфоцитов – уменьшено на 16%). Все показатели крови опытной группы достоверно не отличались от показателей у животных интактной группы (табл. 18).

Таким образом, было показано, что раствор лиофилизированного водного извлечения при внутрижелудочном применении устраняет признаки воспалительного процесса в периферической крови животных с контактным дерматитом.

Показатели периферической крови крыс с индуцированным контактным дерматитом, $M \pm m$ (n=10)

Показатель	Группы животных						
	Интактная	После индукции КД		На 7-е сутки эксперимента		На 12-е сутки эксперимента	
		Контрольная	Опытная	Контрольная	Опытная	Контрольная	Опытная
СОЭ, мм/ч	2,1±0,15	7,13±0,34*	6,9±0,21*	6,4±0,51*	4,8±0,23*,**	4,1±0,25*	2,9±0,51**
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,5±0,36	12,1±0,48*	12,5±0,67*	12,1±0,22*	10,6±0,14*,**	10,3±0,39*	6,9±0,78**
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2,9±0,13	3,4±0,21*	3,1±0,13	3,2±0,12*	3,0±0,13	3,0±0,12	2,7±0,17**
Сегментоядерные нейтрофилы, %	13,4±0,53	31,2±0,38*	29,2±0,71*	27,0±0,33*	24,6±0,33*,**	19,5±0,26*	13,9±0,31**
Базофилы, %	0,9±0,07	0,8±0,1	0,7±0,06	1,1±0,1	0,7±0,1	0,8±0,06	0,9±0,02
Моноциты, %	2,2±0,22	3,4±0,22*	3,2±0,14*	3,2±0,13*	3,1±0,2*	3,0±0,2*	2,8±0,21*
Эозинофилы, %	2,3±0,1	3,8±0,3*	4,1±0,21*	3,9±0,34*	3,4±0,13*	3,5±0,17*	2,8±0,12**
Лимфоциты, %	82,1±0,50	62,5±0,51*	63,8±0,67*	62,9±0,80*	69,8±0,61*,**	65,6±0,52*	74,6±0,15*,**

Результаты оценки противовоспалительной активности

Противовоспалительный эффект ЛВИК выражался в достоверном повышении индекса ингибирования воспалительной реакции в опытной группе ($68,45 \pm 0,26^{**}$) % по сравнению с соответствующим индексом в контрольной группе ($45,15 \pm 0,17$) %.

Результаты гистологических исследований

В кожных лоскутах у животных контрольной группы на поверхности обнаруживались эрозии с признаками эпителизации, покрытые некротическим детритом. В прилежащем к эрозии эпидермисе отмечались дистрофические изменения: гидропическая дистрофия, пара- и гиперкератоз, акантоз и лейкопедез. В дерме наблюдалась интенсивная инфильтрация лимфоидными и гистиоцитарными элементами с примесью нейтрофилов. На дне эрозии выявлялась грануляционная ткань со слабыми признаками зрелости (рис. 24).

У животных опытной группы отсутствовали эрозии и некротический детрит на поверхности кожи. В эпидермисе в средних слоях обнаруживались единичные клетки с признаками гидропической дистрофии, слабо выраженный акантоз и гиперкератоз. В дерме отмечалась слабая очаговая инфильтрация лимфоидными и гистиоцитарными элементами. Придатки кожи были без патологических изменений (рис. 25).

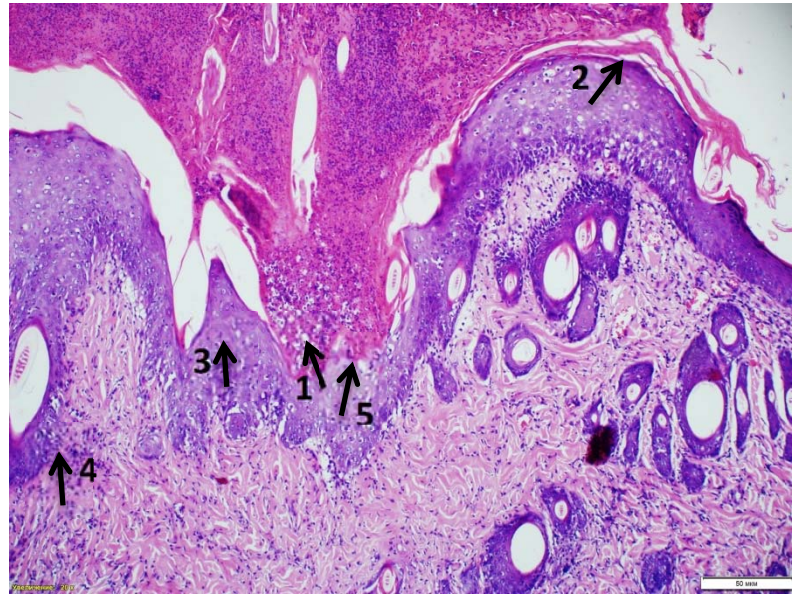


Рисунок 24. Микропрепарат кожи крысы контрольной группы (увеличение 1:200): 1 – гидропическая дистрофия, 2 – гиперкератоз, 3 – акантоз, 4 – инфильтрация лимфоидными и гистиоцитарными элементами, 5 – дно эрозии

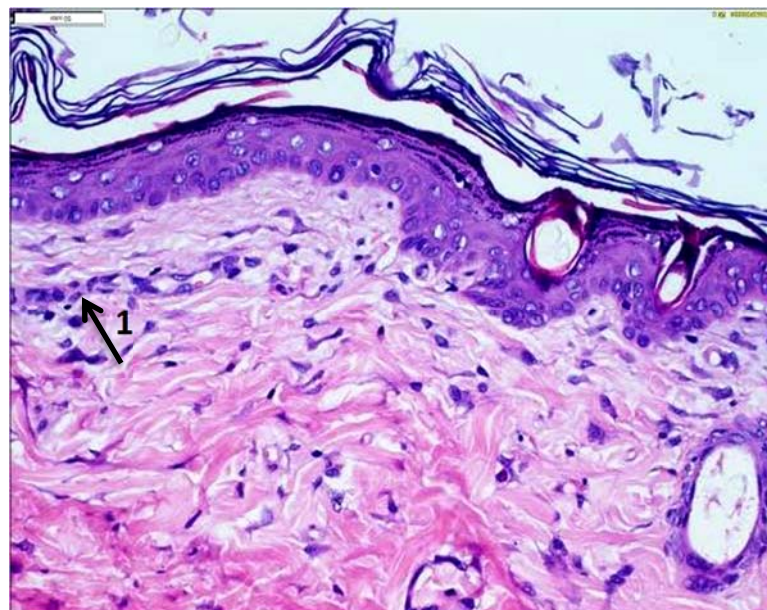


Рисунок 25. Микропрепарат кожи крысы группы опытной группы (увеличение 1:200): 1 – слабо выраженная инфильтрация лимфоидными и гистиоцитарными элементами

Результаты исследования активности миелопероксидазы

В контрольной группе пероксидазная активность составляла ($24,5 \pm 3,5^*$) ед/г и достоверно превышала показатель для опытной группы, составивший ($12,4 \pm 4,1^{**}$) ед/г, а для интактных животных – ($9,1 \pm 2,1$) ед/г.

Основным источником МПО в коже и ткани раны являются полиморфно-ядерные лейкоциты, участвующие в развитии местной воспалительной реакции в острый период [Михальчик Е. В., Титкова С. М., 2006]. Снижение миелопероксидазной активности также подтверждается гистологическими исследованиями: в отличие от контрольной группы, у животных опытной группы в дерме не отмечалось инфильтраций полиморфноядерными лейкоцитами.

4.2.3. Результаты исследования ранозаживляющей активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели линейной раны

Динамику заживления линейной раны оценивали визуально. Заживление раны происходило от концов линейной раны к центру. Размер линейной раны в первый день исследования в среднем составлял ($3,0 \pm 0,05$) см (табл. 19).

Таблица 19

Влияние изучаемых средств на заживление раны у крыс, $M \pm m$ (n=10)

Группа	Размер раны, см	Степень эпителизации, баллы
2-е сутки		
Контрольная	$3,1 \pm 0,05$	-
Опытная	$3,0 \pm 0,03$	-
Сравнения	$3,0 \pm 0,03$	-
5-е сутки		
Контрольная	$2,9 \pm 0,18$	$1,0 \pm 0,11$
Опытная	$2,4 \pm 0,20^{**}$	$2,1 \pm 0,89^{**}$
Сравнения	$2,0 \pm 0,23^{**}$	$2,3 \pm 1,01^{**}$
8-е сутки		
Контрольная	$1,7 \pm 0,21$	$2,2 \pm 0,21$
Опытная	$0,65 \pm 0,11^{**}$	$2,9 \pm 0,76^{**}$
Сравнения	$0,49 \pm 0,23^{**}$	$2,9 \pm 0,29^{**}$

На 5-е сутки процесс заживления раны у животных контрольной группы проходил смешанным натяжением, сохранялись признаки воспаления, у половины животных шов имел отечный вид. У всех животных наблюдалось начало рубцевания раны. Размер ран составлял $(2,9 \pm 0,18)$ см (табл. 19, рис. 26).



Рисунок 26. Состояние кожного покрова у животных контрольной группы на 5-е сутки эксперимента

Прогрессивные изменения наступали на 8-е сутки исследования: так, размер раны уменьшился до $(1,7 \pm 0,21)$ см (табл. 19), у некоторых животных в области раны отмечалась гиперимия (рис. 27).



Рисунок 27. Состояние кожного покрова у животных контрольной группы на 8-е сутки эксперимента

На 5-е сутки исследования процессы заживления раны у животных опытной группы и группы сравнения проходили первичным натяжением и существенно быстрее, чем у животных контрольной группы, однако область раны была гиперемирована (рис. 28, 29). У всех животных наблюдалось рубцевание раны. Размер ран составлял $(2,4 \pm 0,20)$ и $(2,0 \pm 0,23)$ см (табл. 19).



Рисунок 28. Состояние кожного покрова у животных опытной группы на 5-е сутки эксперимента



Рисунок 29. Состояние кожного покрова у животных группы сравнения на 5-е сутки эксперимента

Уже на 9-е сутки исследования у животных опытной группы и группы сравнения наблюдалась полная эпителизация шва (рис. 30). У некоторых животных рана заживала не полностью, однако размер линейной раны опытных животных и

животных группы сравнения достоверно отличался от показателей контрольной группы и составлял $(0,6 \pm 0,11)$ и $(0,45 \pm 0,23)$ см (табл. 19. рис. 31).



Рисунок 30. Состояние кожного покрова у животных опытной группы на 8-е сутки эксперимента

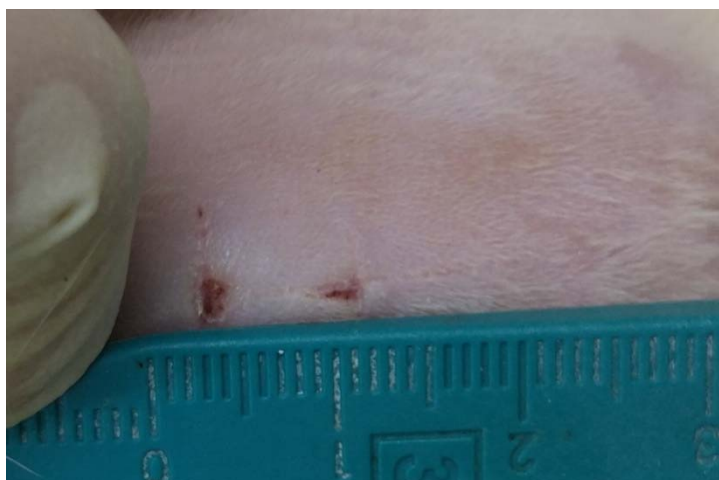


Рисунок 31. Состояние кожного покрова у животных группы сравнения на 8-е сутки эксперимента

Результаты оценки тензиометрии раневого рубца

Абсолютные данные были получены в единицах грамм-силы, которые путем математических расчетов были преобразованы в ньютоны. 1 гс равен 0,001 кгс или 0,00980665 Н.

Данные тензиометрии раневого рубца крыс в исследуемых группах, Н ($M \pm m$, $n=10$):

- контрольная – $3,308 \pm 0,96$;
- опытная – $5,088 \pm 1,77^{**}$;
- сравнения – $6,015 \pm 1,54^{**}$.

Как видно из представленных данных, применение раствора ЛВИК повышает скорость заживления и прочность раневого рубца. При этом показатели опытной группы не отличаются от показателей группы сравнения, что показывает сравнимое действие исследуемых препаратов.

4.2.4. Результаты исследования капилляропротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели ксилоловых петехий

Результаты исследования капилляропротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой представлены в табл. 20.

Таблица 20

Влияние лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на проницаемость сосудистой стенки у крыс, $M \pm m$ (n=10)

Группа животных	Время появления петехий, сек	Отличие от контрольной группы, %	Время отчетливого прокрашивания, сек	Отличие от контрольной группы, %
Контрольная	$71,5 \pm 2,13$	-	$95,9 \pm 1,84$	-
Опытная	$123,8 \pm 3,16^{**}$	$52,5 \pm 2,12^{**}$	$172,8 \pm 1,14^{**}$	$75,4 \pm 1,05^{**}$
Сравнения	$132,4 \pm 2,21^{**}$	$59,3 \pm 1,87^{**}$	$181,1 \pm 2,08^{**}$	$85,2 \pm 1,45^{**}$

В ходе эксперимента было установлено, что время появления петехий и время их отчетливого прокрашивания у животных опытной группы и группы сравнения достоверно больше, чем аналогичные показатели у животных контрольной группы. Данные результаты показывают, что лиофилизированное водное извлечение обладает выраженным капилляропротекторным действием, снижая проницаемость сосудистой стенки. При этом достоверных различий между значениями измеряемых показателей у крыс обеих опытных групп зарегистриро-

вано не было, что свидетельствует о сопоставимом капилляропротекторном эффекте караганы гривастой и препарата сравнения «Аскорутин».

4.3. Результаты исследования гепатопротекторной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом

В качестве критериев оценки сохранности печеночной ткани и гепатопротекторной эффективности ЛВИК были исследованы некоторые биохимические показатели сыворотки крови крыс (табл. 21).

Таблица 21

Влияние ЛВИК и «Карсила» на биохимические показатели сыворотки крови крыс ($M \pm m$), $n=10$

Показатель/Группа	Интактная	Контрольная	Опытная	Сравнения
8-е сутки				
АЛТ, МЕ	41,2±1,5	185,7±11,2*	75,6±1,8*,**	69,9±1,2*,**
АСТ, МЕ	142,5±1,7	992,4±15,7*	324,1±12,8*,**	332,3±13,1*,**
ЩФ, Е/л	288,4±0,87	955,4±1,09*	648,5±0,97*,**	667,8±0,87*,**
Билирубин общий, мкмоль/л	9,1±0,78	36,4±1,7*	18,2±2,3*,**	16,8±1,5*,**
Холестерин моль/л	1,43±0,25	4,15±0,31*	2,53±0,23*,**	2,55±0,24*,**
14-е сутки				
АЛТ, МЕ	40,7±1,2	145,2±12,1*	54,9±4,1*,**	55,4±3,2*,**
АСТ, МЕ	141,5±0,8	573,1±13,8*	232,1±11,6*,**	221,5±16,3*,**
ЩФ, Е/л	270,4±0,50	745,1±1,12*	408,6±0,45*,**	426,1±0,68*,**
Билирубин общий, мкмоль/л	9,2±0,21	18,9±1,32*	12,1±0,82*,**	10,9±0,39*,**
Холестерин моль/л	1,41±0,34	3,59±0,28*	1,93±0,3*,**	2,05±0,22*,**

На 8-е сутки исследования после введения гепатотоксина (парацетамола) у крыс контрольной группы (по сравнению с интактными крысами) было отмечено значительное повышение уровня печеночных ферментов: АЛТ в 4,5 раза, АСТ в 6,9 раз, ЩФ в 3,3 раза; холестерина в 2,9 раза, билирубина общего в 4 раза. У крыс опытной группы и группы, получавшей «Карсил», по сравнению с крысами

интактной группы указанные сдвиги были выражены в меньшей степени и достоверно отличимы от показателей контрольной группы. В частности, уровень АЛТ был выше в 1,8 и 1,6 раза, АСТ в 2,2 и 2,3 раза, ЩФ в 2,2 и 2,3 раза, холестерина в 1,76 и 1,78 раза, билирубина общего в 2 и 1,8 раза соответственно.

На 14-е сутки лечения (спустя 7 суток после введения гепатотоксина и 7 суток после введения препаратов) у крыс контрольной группы биохимические показатели были достоверно выше по сравнению с остальными группами животных. Сохранялись повышенные показатели печеночных ферментов: АЛТ в 4 раза, АСТ в 6 раз, ЩФ в 2,7 раз; холестерина в 2,1 раза, билирубина общего в 2 раза. У крыс опытной группы и группы, получавшей «Карсил» по сравнению с крысами интактной группы указанные сдвиги были выражены в меньшей степени и достоверно отличимы от показателей контрольной группы. В частности, уровень АЛТ был выше в 1,3 и 1,4 раза, АСТ в 1,6 и 1,5 раза, ЩФ в 1,5 и 1,6 раза, холестерина в 1,3 и 1,4 раза, билирубина общего в 1,3, и 1,1 раз соответственно.

Следует отметить, что значения измеряемых показателей у животных, получавших ЛВИК и «Карсил», хотя и превышали значения аналогичных показателей у интактных животных, тем не менее, были существенно ниже, чем у контрольных животных. Данные результаты свидетельствуют о меньшем проявлении гепатотоксического действия парацетамола на фоне применения караганы гривастой и «Карсила». Показано, что карагана гривастая и «Карсил» имели профилактическое действие, т. к. на фоне их применения исследуемые показатели крови были существенно ниже на следующий день после применения гепатотоксина по сравнению с показателями контрольной группы. При этом достоверных различий между значениями измеряемых показателей у крыс обеих опытных групп зарегистрировано не было, что свидетельствует о сопоставимом гепатопротекторном эффекте караганы гривастой и препарата сравнения.

Результаты гистологических исследований

Цитоархетиктоника печени животных контрольной группы сохранена, однако обнаружен некроз отдельных гепатоцитов и выраженное полнокровие синусоидов. Гепатоциты средних и периферических отделов долек находились в состоянии гидропической, вплоть до баллонной, дистрофии; отмечались внутридольковые и перипортальные воспалительные инфильтраты, построенные из лимфоцитов, плазмацитов, макрофагов с примесью лейкоцитов; в ряде случаев обнаружены перипортальные некрозы гепатоцитов и расширение портальных трактов (рис. 32). Морфологическая картина соответствовала токсическому (лекарственному) гепатиту.

В печени животных опытной группы и группы сравнения цитоархитектоника сохранена: гепатоциты с четкими ровными ядрами образовывали печеночные балки, синусоиды местами полнокровны, триады окружены тонкой прослойкой соединительной ткани. У гепатоцитов периферических отделов наблюдались единичные явления гидропической дистрофии, обнаружены единичные внутридольковые лимфоидные инфильтраты, отмечалась гиперплазия купферовских клеток (рис. 33).

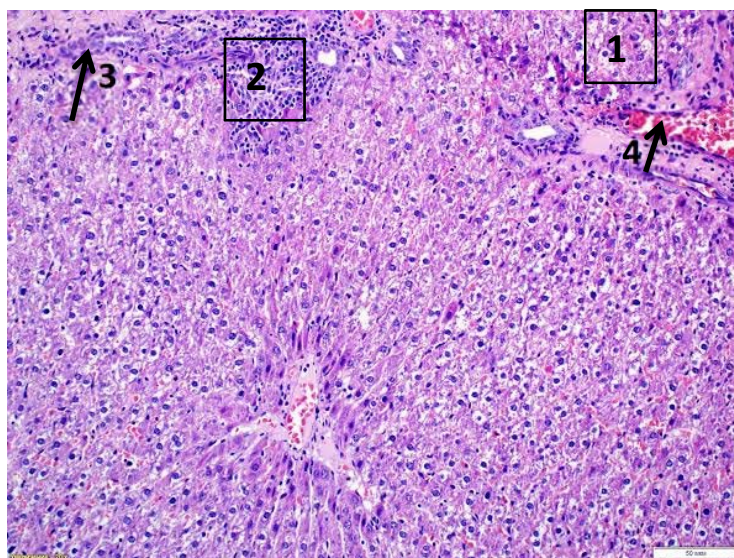


Рисунок 32. Микропрепарат печени контрольных животных (увеличение 1:200): 1 – гидropическая дистрофия гепатоцитов, 2 – некроз гепатоцитов, 3 – лимфоцитарный инфильтрат, 4 – полнокровие сосудов.

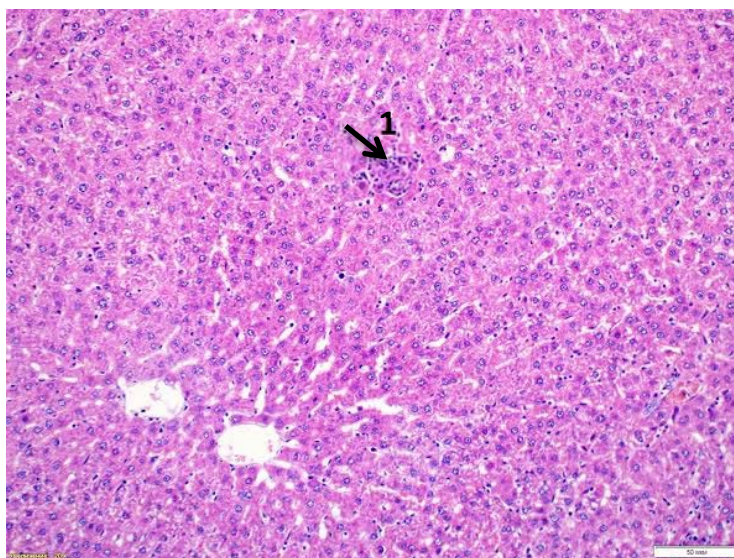


Рисунок 33. Микропрепарат печени опытных животных (увеличение 1:200): 1–лимфоцитарный инфильтрат.

Таким образом, в контрольной группе гистологическая картина соответствовала токсическому гепатиту с выраженным воспалением, тогда как в опытной группе и группе сравнения – минимальному воспалению (табл. 22), показывая,

что данные препараты положительно влияют на нормализацию морфофункционального состояния печени.

Таблица 22

Индекс гистологической активности гепатита на фоне применения ЛВИК и «Карсила»

Группы	Перипортальный некроз	Интралобулярная дегенерация	Портальное воспаление	Фиброз	ИГА
Контрольная	5	4	4	1	14
Опытная	0	2	2	0	4
Сравнения	0	2	2	0	4
Интактная	0	0	0	0	0

4.4. Результаты исследования антиоксидантной активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой методом активированной хемилюминесценции АБАП в гомогенатах печени крыс, пораженных острым гепатитом

Обнаружено, что развитие острого гепатита сопровождалось снижением АОА гомогенатов печени (рис. 34). Так, на 15-е сутки эксперимента этот показатель у крыс контрольной группы был на 37% ниже, чем у интактных животных. У животных опытной группы, получавших ЛВИК, достоверных изменений АОА гомогенатов печени, по сравнению с интактными животными, не выявлено. В то же время у животных данной группы АОА гомогенатов печени была в среднем на 39% выше, чем у животных контрольной группы. Что касается группы сравнения, то изучаемый показатель был больше на 35%, чем у крыс контрольной группы, достоверно не отличался от показателя опытной группы, однако был меньше на 15%, чем у животных интактной группы.

Известно, что парацетамол инициирует перекисное окисление липидов (ПОЛ), активируя выработку свободных радикалов, которые способствуют разрушению мембран клеток печени [Яценков А. И., 2013]. Поэтому снижение АОА печени животных контрольной группы связано с расходом эндогенных антиокси-

дантов в печени на фоне активации свободнорадикальных реакций, индуцированных введением гепатотоксина. АОА печени животных опытной группы была выше, чем контрольной. Это связано с тем, что в исследуемом растении содержатся флавоноиды, являющиеся сильными антиоксидантами.

АОА гомогената печени, мкмоль/г сырой ткани ($M \pm m$) в различных группах:

интактная – $4,64 \pm 0,12$; контрольная – $2,92 \pm 0,10^*$; опытная – $4,07 \pm 0,17^{**}$; сравнения $3,94 \pm 0,19^{*,**}$.

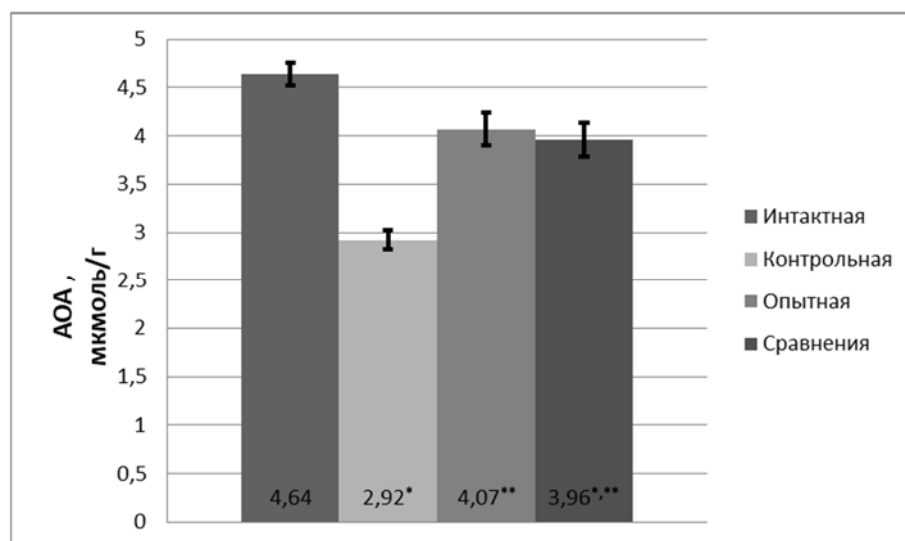


Рисунок 34. Антиоксидантная активность гомогенатов печени крыс, мкмоль/г сырой ткани ($n=10$) в различных группах

4.5. Результаты исследования гипополипидемической активности лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой на модели экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной Твин-80

Результаты исследования гипополипидемической активности ЛВИК представлены в табл. 23.

**Влияние ЛВИК на биохимические показатели плазмы крови
крыс на фоне экспериментальной гиперлипидемии ($M \pm m$)**

Биохимические показатели	Группа животных		
	Интактная	Контрольная	Опытная
Триацилглицериды (ТАГ), мг/дл	60,2±6,7	93,7±10,2*	51,4±6,3**
Холестерин (ХС), мг/дл	56,9±6,2	83,4±8,0*	61,2±6,7**

Полученные данные показывают, что лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает гиполипидемической активностью.

Применение раствора ЛВИК в течение 10 суток способствовало снижению уровня триацилглицеридов и холестерина при достоверном отличии от показателей контрольной группы.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Фитопрепараты обладают широким фармакотерапевтическим спектром действия и успешно применяются в профилактике и лечении острых и хронических заболеваний, а также в комплексной терапии [Соколов С.Я., 2001; Крендаль Ф.П., Козин С.В., 2007]. Также растительные препараты имеют относительно низкую токсичность, обладают более мягким терапевтическим действием и не вызывают серьезных побочных реакций при длительном применении [Сёмкина О.А., 2005; Кукес В.Г., 2013; Терёшкина О.И., 2015].

В результате проведенных экспериментальных исследований лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой было показано, что оно обладает выраженной фармакологической активностью. Опираясь на литературные данные о том, что в растениях рода *Caragana* Lam. доминирующей фракцией биологически активных веществ, определяющих фармакологическую активность растения, являются флавоноиды, был проведен химический анализ полифенольных соединений (флавоноидов) лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой методом ВЭЖХ. Профиль флавоноидов караганы был представлен в основном флавонолгликозидами – кверцитрином, гиперозидом, мирицитрином, авикулярином, ларицитрин-3-рамнозидом. Также подтверждена антиоксидантная активность сырья караганы гривастой *in vitro* методом активированной хемилюминесценции.

Известно, что флавоноиды обладают широким спектром фармакологической активности, выраженной противовоспалительной активностью и мощными антиоксидантными свойствами [Weng Z., 2012]. Поэтому карагана гривастая является перспективным объектом для дальнейшего исследования ее фармакологических свойств.

При оценке фармакологических свойств караганы гривастой было показано, что она обладает дерматотропной активностью. Это было подтверждено наличием у караганы гривастой противовоспалительной, ранозаживляющей и капилляропротекторной активности.

Противовоспалительная активность караганы гривастой была подтверждена при ее исследовании в форме лиофилизированного водного извлечения на модели контактного дерматита при накожном и пероральном применении на белых крысах-самцах. Раствор ЛВИК при накожном и пероральном применении способствовал заживлению участка контактного дерматита. В основе механизма развития контактного дерматита, вызванного 2,4-ДНХБ, лежит аллергическое воспаление, которое характеризуется сильным поражением кожных покровов, обширной лейкоцитарной инфильтрацией дермы, повышением интенсивности процессов ПОЛ с выходом воспалительных ферментов в дерму [Sun, G., Zhang, Y., 2007; Беремейчик А. П., 2003]. Например, основным источником воспалительного фермента миелопероксидазы в пораженной коже являются полиморфноядерные лейкоциты, участвующие в развитии местной воспалительной реакции в острый период [Михальчик Е. В., Титкова С. М., 2006; Sun G., Zhang Y., 2007]. Предположение, что влияние раствора ЛВИК на ускорение заживления пораженного участка при накожном применении обусловлено действием биологически активных веществ (флавоноидов), содержащихся в растении, нашло подтверждение в наших исследованиях. Накожное нанесение и пероральное введение раствора ЛВИК животным опытной группы способствовало уменьшению выраженности внешних и гистологических признаков контактного дерматита (эрозии эпидермиса, нейтрофильной инфильтрации дермы) по сравнению с контрольной группой. Снижение активности воспалительного фермента миелопероксидазы в коже в области очага контактного дерматита у животных опытной группы (при достоверном отличии от показателей контрольной группы) подтвердило противовоспалительную активность водного извлечения караганы гривастой. Снижение миелопероксидазной активности также подтверждается гистологическими исследованиями: в отличие от контрольной группы, у животных опытной группы в дерме не отмечалось выраженной инфильтрации полиморфноядерными лейкоцитами. Раствор ЛВИК также устранял признаки воспалительного процесса в периферической крови животных с контактным дерматитом. Повышение показателя индекса ингибиро-

ния воспалительной реакции подтвердило противовоспалительный механизм действия караганы гривастой [Ершик В. М., Голубцов В. В., 2012].

На модели линейной раны было показано наличие ранозаживляющей активности караганы гривастой. При нанесении на раневую поверхность раствора ЛВИК в течение 8 суток было отмечено ускорение заживления ран у крыс уже на 3-и сутки применения препарата. Для оценки эффективности регенеративных процессов заживления линейной раны оценивали длину раневой поверхности, скорость эпителизации раны и прочность раневого рубца на разрыв. Полученные в ходе эксперимента данные (при достоверном отличии от показателей контрольной группы) подтвердили наличие ранозаживляющей активности караганы гривастой. Ранозаживляющее действие караганы гривастой, вероятно, связано с тем, что входящие в ее состав БАВ являются сильными антиоксидантами. Из литературных данных известно, что антиоксиданты способствуют снижению активности свободных радикалов ПОЛ [Cui Y. Y., Yang C. X., 2018], которые отрицательно влияют на заживление поврежденных тканей [Watson S. Zibadi., 2013]. Также имеются данные, что местное применение антиоксидантных препаратов способствует формированию в ране соединительнотканых волокон, которые способствуют эпителизации раневого рубца и увеличению его прочности [Degim Z., 2002].

На модели ксилоловых петехий была подтверждена капилляропротекторная активность караганы гривастой. Показано, что применение раствора ЛВИК увеличивало время появления петехий и время отчетливого прокрашивания у крыс (при достоверном отличии от показателей контрольной группы), т. е. снижало проницаемость сосудистой стенки капилляров, пораженных ксилолом. Возможный механизм капилляропротекторного действия основывается на Р-витаминной активности раствора ЛВИК. Под витамином Р подразумевают некоторые вещества из группы флавоноидов (рутин, кверцитин и др.), обладающие способностью снижать проницаемость и ломкость капилляров [Владимиров А. Ю., 2014]. В карагане гривастой содержится большое количество флавоноидов – в их число входят рутин, кверцитин и их производные. Данные вещества участвуют в окисли-

тельно-восстановительных процессах, тормозят действие гиалуронидазы. Повышается концентрация гиалуроновой кислоты, которая увеличивает эластичность капилляров и снижает их проницаемость. Кроме того, флавоноиды обладают антиоксидантными свойствами [Машковский М. Д., 2005].

Также была исследована гепатопротекторная активность караганы гривастой на модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом. Известно, что одним из механизмов токсического действия парацетамола является инициация процессов ПОЛ в печени, в результате которой активируется выработка свободных радикалов, способствующих разрушению мембран клеток печени, что снижает активность эндогенной антиоксидантной системы и приводит к нарушению функциональности различных биохимических систем организма [Агарков А.А., 2009, Яценков А. И., 2013]. В качестве критериев оценки сохранности печеночной ткани нами были исследованы некоторые биохимические показатели сыворотки крови крыс: АЛТ, АСТ, ЩФ, общий билирубин, холестерин. На фоне лечебно-профилактического применения раствора ЛВИК исследуемые показатели крови опытной группы и группы сравнения относительно показателей контрольной группы были достоверно ниже после применения парацетамола (на 8-е сутки введения препарата) и в конце исследования (на 13-е сутки введения препарата). Антиоксидантную активность раствора ЛВИК исследовали в гомогенатах печени опытных животных. Развитие острого гепатита сопровождалось снижением АОА гомогенатов печени на 37% (по сравнению с АОА интактных животных). У животных, получавших раствор ЛВИК, достоверных изменений АОА гомогенатов печени, по сравнению с данными у интактных животных, не выявлено. В то же время у животных опытной группы АОА гомогенатов печени была в среднем на 39% выше, чем у животных контрольной группы. При гистологическом исследовании выявлена нормализация морфофункциональных показателей печени крыс, которые получали раствор ЛВИК. Можно предположить, что гепатозащитное действие караганы гривастой обусловлено тем, что флавоноиды растения ингибируют процессы ПОЛ, обладают мембраностабилизирующей активностью и по-

вышают эффективность эндогенной антиоксидантной системы печени [Куркин В. А., Куркина А. В., 2013; Cui Y. Y., Yang C. X., 2018].

На модели экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной Твин-80, нами была показана гиполипидемическая активность караганы гривастой. Это проявлялось снижением основных биохимических показателей гиперлипидемии – триацилглицеридов и холестерина – после 10 суток применения раствора ЛВИК. Механизмом гиперлипидемического действия поверхностного детергента Твин-80 является его способность связывать липиды липопротенинов плазмы крови, образуя мицеллы, которые изолированы от действия фермента липопротеидлипазы [Мухаммед А. А., Максимов М. Л., 2014]. Гиполипидемическое действие караганы гривастой может быть обусловлено наличием в ней флавоноидов, угнетающих всасывание холестерина в кишечнике за счет обменной реакции с желчными кислотами [Николаев С. М., Намсараева Г. Т., 2003].

ВЫВОДЫ

1. Основная группа биологически активных веществ лиофилизированного водного извлечения караганы гривастой – флавоноиды – была установлена методом ВЭЖХ-ДМД-МС и представлена в основном флавонолгликозидами: кверцитрином, гиперозидом, мирицитрином, авикулярином, ларицитрин-3-рамнозидом.
2. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает антиоксидантной активностью *in vitro*, которая была установлена методом активированной хемилюминисценции АБАП.
3. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой при пероральном и накожном применении максимальной дозы (7000 мг/кг) не вызывало гибели животных, что позволяет сделать вывод, что исследуемое вещество не обладает токсичностью и что согласно ГОСТ 12.1.007-76 исследуемое вещество соответствует 4-му классу опасности «Вещества малоопасные».
4. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает дерматотропной активностью:
 - при накожном и пероральном применении на модели контактного дерматита проявляется противовоспалительная активность: данные гематологических, гистологических исследований, расчетный показатель ингибирования воспалительной реакции и активность миелопероксидазы в области повреждения кожи показали противовоспалительный механизм действия водного извлечения караганы гривастой при ее накожном и пероральном применении;
 - при накожном применении на модели линейных ран проявляется ранозаживляющая активность: данные измерения длины и степени эпителизации раны, а также данные тензиометрии раневого рубца подтвердили наличие ранозаживляющей активности водного извлечения караганы гривастой;

- при пероральном применении на модели ксилоловых петехий проявляется капилляропротекторная активность: увеличение времени появления петехий и их отчетливого прокрашивания подтвердило снижение проницаемости сосудистой стенки капилляров, пораженных ксилолом.

5. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает гепатопротекторной активностью при пероральном применении на модели острого гепатита, индуцированного парацетамолом, что проявилось нормализацией биохимических показателей крови (АЛТ, АСТ, ЩФ, холестерина, общего билирубина), и антиоксидантной активностью гомогенатов печени, которую определяли хемилюминесцентным методом, основанным на окислении люминола, индуцированного 2,2'-азобис(2-амидинопропаном). При гистологическом исследовании выявлена нормализация морфофункциональных показателей печени крыс, которые получали ЛВИК.

6. Лиофилизированное водное извлечение караганы гривастой обладает гиполипидемической активностью, показанной на модели экспериментальной гиперлипидемии, индуцированной Твин-80, что проявлялось снижением основных биохимических показателей гиперлипидемии – триацилглицеридов и холестерина.

Научно-практические рекомендации

Данные, полученные в результате химического анализа *Caragana jubata* (Pall.) Poir., могут быть использованы для подготовки фармакопейной статьи на сырье и для стандартизации лекарственного растительного сырья караганы гривастой.

Выраженные дерматотропные свойства растения *Caragana jubata* (Pall.) Poir. позволяют рекомендовать его для дальнейшего изучения в виде готовых мягких лекарственных форм (мазей, кремов, гелей, линиментов) и для внедрения в дерматологическую практику в качестве симптоматической терапии при воспалительных заболеваниях кожи.

Наличие гепатопротекторных и гиполипидемических свойств у караганы гривастой дает основание рекомендовать ее для дальнейшего использования в виде твердых лекарственных форм (таблетки, капсулы и др.) как лечебно-профилактического средства для лиц с заболеваниями печени, а также для профилактики атеросклероза.

Список используемых сокращений

2,4-ДНХБ – 2,4-динитрохлорбензол

АБАП – 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорид

АлТ – аланинаминотрансфераза

АОА – антиоксидантная активность

АсТ – аспартатаминотрансфераза

БАВ – биологически активные вещества

БАД – биологически активные добавки

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГРЛС – государственный реестр лекарственных средств

ДМД – диодно-матричный спектрофотометрический детектор

ИГА – индекс гистологической активности

ИИ_{вр} – индекс ингибирования воспалительной реакции

КД – контактный дерматит

ЛВИК – лиофилизированное водное извлечение караганы

МПО – миелопероксидаза

МС – масс-спектрометрический детектор

ОФС – общая фармакопейная статья

ПОЛ – перикисное окисление липидов

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ТАГ – триацилглицериды

ХЛ – хемилюминисценция

ХС – холестерин

ЩФ – щелочная фосфатаза

Список литературы

1. Абдурахманов, Т.М. Антиоксидантное и анаболическое действие природных адаптогенов: Докл. на 5 науч.-практ. конф. по апитерапии «Пчелы и ваше здоровье». / Т.М. Абдурахманов, Ш.М. Омаров, Э.Н. Агаева [и др.] // Апите-
рапия сегодня. – 1997. – № 5. – С. 113–114.
2. Ажунова, Т. А. Гиполипидемические и противовоспалительные свойства
растительного средства «Камфора-25» / Т. А. Ажунова, С. М. Николаев //
Растительные ресурсы. – 2009. – Т. 45. – № 4. – С. 105–110.
3. Алексеева, Э. А. Адаптогенное действие комплексного растительного сред-
ства «Кардекаим» / Э.А. Алексеева, Л.Н. Шантанова // Вестник Бурятского
государственного университета. – 2010. – № 12. – С. 59–63.
4. Алексеенко, О. В. Биофлавоноиды как средство борьбы с гиперлипидемией и
гипертриглицеридемией / О.В. Алексеенко, В.В. Шилов, И.А. Жукова [и др.]
// Экспериментальная и клиническая фармакология: Материалы междуна-
родной научной конференции, Гродно: 29–30 сентября – 2011. – С. 3–6.
5. Аллергические болезни: пособие / Д.К. Новиков, П.Д. Новиков, Л.Р. Выхри-
стенко [и др.]. – Витебск: ВГМУ, 2012. – 204 с.
6. Артемьева, И. А. Сухие экстракты караганы гривастой и горца птичьего в
комплексном лечении герпетического стоматита / И.А. Артемьева, В.Д. Мо-
локов, Т.П. Зюбр, [и др.] // International Journal on Immunorehabilitation. –
2009. – Т. 11. – № 1. – С. 111–112.
7. Асемов, А. Б. Организационно–экономические аспекты формирования рынка
лекарственных растений / А.Б. Асемов, М.К. Курманов // Молодежный науч-
ный форум: общественные и экономические науки. – 2017. – № 6. – С. 120–
124.
8. Атлас лекарственных растений России / под ред. В.А. Быкова. М.: Щербин-
ская типография, – 2006. – 351 с.
9. Ахметова, М. Р. Сезонная динамика содержания суммы алкалоидов и сво-
бодных аминокислот в *Caragana frutex* (fabaceae) / М. Р. Ахметова, Н. И Фе-

- доров, Г. В. Шендель [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2013. – Т. 15. – № 3–4.
10. Аюшиева, С. Ц. Основные группы гепатопротекторных препаратов / С.Ц. Аюшиева // Сибирское медицинское обозрение. – 2006. – Т. 41. – № 4.
 11. Балтабаев, М. К. Особенности клинического течения атопического дерматита у лиц, проживающих в Кыргызской Республике / М.К. Балтабаев, Д.А. Садыкова, А.А. Койбагарова [и др.] // Вестник КРСУ. – 2011. – Т. 11. – № 7. – С. 50.
 12. Барабанов, А. Л. Некоторые вопросы патогенеза экземы / А.Л. Барабанов, В.Г. Панкратов // Медицинская панорама. – 2004. – Т. 6. – С. 5–8.
 13. Барнаулов, О. Д. Ангиопротекторное и стресс–лимитирующее действие фитопрепаратов / О.Д. Барнаулов, М.Л. Поспелова, С.О. Барнаулова // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5. – № 1.
 14. Барнаулова, С.О. Пищевые и лекарственные растения как ангиопротекторы / С.О. Барнаулова, О.Д. Барнаулов // Неврология – иммунология: сб. матер. юбилейной 10-й конф. СПб., 2001. – С. 20–23.
 15. Бейли, Н. Статистические методы в биологии / Пер. с англ.: Под ред. В.В. Налимова. М.: Изд-во «Иностр. лит.», 1962. – 242 с.
 16. Белодубровская, Г.А. Фармакогностическое и фармакологическое исследование некоторых представителей рода карагана *CARAGANA* LAM.: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.00.25 / Белодубровская Галина Александровна. – Ленинград, 1990. – 25 с.
 17. Белоусова, Т. А. Антигистаминные препараты в современной клинической практике: проблемы выбора / Т.А. Белоусова, М.В. Горячкина // Русский медицинский журнал. – 2011. – Т. 19. – № 32.
 18. Беркутенко, А. Н. Лекарственные и пищевые растения Аляски и Дальнего Востока России / А. Н. Беркутенко, Э. Г. Вирек. – Изд-во Дальневосточного унив., 1995. – 192 с.

19. Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3 т.: Т. I / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова [и др.]; отв. ред. В.Ф. Семихов. – М.: Наука, 2001. – 350 с.
20. Биологически активные вещества растительного происхождения. В 3 т. Т. II / Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова [и др.]; отв. ред. В.Ф. Семихов. – М.: Наука, 2001. – 764 с.
21. Биологический энциклопедический словарь / А.А. Бабаев, Г.Г. Винберг, Г.А. Заварзин и др.; под общ. ред. М.С. Гилярова. – 2-е изд., исправл. – М.: Сов. энциклопедия, 1986. – 864 с.
22. Блинова, К. Ф. Лекарственные растения тибетской медицины Забайкалья / К.Ф. Блинова, В.Б. Куваев // Вопросы фармакогнозии. – 1965. – Т. 3. – С. 163–178.
23. Бондарева, Н.А. Род *Caragana* Lam. в Сибири (систематика, изменчивость, естественная гибридизация): автореф. дис. ... канд. биол. Наук: 03.00.05 / Бондарева Наталья Александровна. - Новосибирск, 1988. - 16 с.
24. Бондаренко, Д. А. Моделирование патологических состояний кожи у крыс и мышей / Д.А. Бондаренко, Л.А. Скобцова, Д.И. Скобцов [и др.] // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т. 9. – № 4. – С. 28–31.
25. Борисова, Е.О. Побочные эффекты системной глюкокортикостероидной терапии / Е.О. Борисова // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2004. - № 3. - С. 14-18.
26. Буданцев, А. Л. Дикорастущие полезные растения России / А. Л. Буданцев, Е. Е. Лесиовская – Санкт–Петербург: Изд. СПХФА, 2001. – 663 с.
27. Буданцев, А.Л. Растительные ресурсы России. Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. Том 3. Семейства Fabaceae–Ariaceae. / А.Л. Буданцев – Санкт-Петербург: Товарищество научных изданий КМК, 2010, – 692 с.
28. Бунатян, Н.Д. Природные антиоксиданты как гепатопротекторы / Н.Д. Бунатян, О.А. Герасимова, Т.С. Сахарова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1999. – № 2. – С. 64–68

29. Бунятян, Н. Д. Эффективность 5% альтановой мази при контактном дерматите у крыс / Н.Д. Бунятян, В.В. Березнякова, Т.Ю. Глазкова [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2004. – № 1. – С. 160–162.
30. Валягина, Е.Т. Лекарственные растения России. Целительные травы / Е.Т. Валягина. – М.: Агропромиздат, – 1997. – 287 с.
31. Ванюшкин, А.Н. Использование мембраностабилизирующего эффекта некоторых адаптогенов для оценки их биологической активности и качества. / А.Н. Ванюшкин, Ф.П. Крендаль, С.В. Козин [и др.] // Всерос. науч. конф. «Актуальные проблемы создания новых лекарственных средств», Санкт-Петербург. – 1996. – С. 125.
32. Вельтищев, Ю. В. Справочник практического врача. Том 2 / Ю.В. Вельтищев, Ф.И. Комаров, С.М. Навашин. Под ред. А.И. Воробьева. – 7-е изд. – М.: Издат. Дом ОНИКС, Альянс-В. – 1998. – 336 с.
33. Венгеровский, А. И. Гепатопротекторное и антиоксидантное действие экстракта солянки холмовой при парацетамоловом гепатите у крыс / А.И. Венгеровский, А.Н. Млентьева, В.Н. Буркова // Химико-фармацевтический журнал. – 2007. – Т. 44. – № 3. – С. 29–31.
34. Венгеровский, А.И. Влияние гепатопротекторов, содержащих полифенолы, на метаболизм и функции поджелудочной железы и печени при экспериментальном остром панкреатите. / А.И. Венгеровский, М.Е. Мозжелин, И.В.Суходоло [и др.] // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. – 2004. – № 1. – С. 29–32.
35. Веремейчик, А. П. Морфологические изменения кожи морских свинок при аллергическом контактном дерматите и его лечении низкоинтенсивным лазерным излучением / А. П. Веремейчик, В. С. Гайдук, В. В. Давыдов [и др.] // Медицинский журнал. – 2003. – № 3. – С. 51–54.
36. Вихтинская, И. Л. Фармакологическая активность суммы БАВ видов караган / И. Л. Вихтинская, В. В. Батик, Е. Н. Новикова // Вторая респ. конф. по мед. Ботанике, Киев. – 1988. – С. 217–218.

37. Владимиров, А. Ю. Флавоноиды *Fagopyrum sagittatum* Gilib / А.Ю. Владимиров, С.В. Гарная // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2014. – Т. 28. – № 24 (195). – С. 239–241.
38. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и клеточная хемилюминесценция / Ю.А. Владимиров, Е.В. Проскурнина // Успехи биол. химии. – 2009. – Т.49. – С. 341–388.
39. Волкова, Е. Н. Атопический дерматит / Е.Н. Волкова // Лечащий врач. – 2006. – Т. 9. – С. 22–29.
40. Воронков, А. В. Современные подходы фармакологической коррекции патологических рубцов / А.В. Воронков, Э.Ф. Степанова, Ю.Ю. Жидкова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2014. – Т. 2. – №. 3. – С. 301–308.
41. Георгиевский, В.П. Биологически активные вещества лекарственных растений / В.П. Георгиевский, Н.Ф. Комиссаренко, С.Е. Дмитрук. – Новосибирск: Наука, – 1990. – 333 с.
42. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. / С. Гланц; перевод с английского Ю. А. Данилова. – М.: Практика, 1999. – 459 с.
43. Гомберг, М. А. Атопический дерматит / М.А. Гомберг, А.М. Соловьев, В.А. Аковбян // Русский медицинский журнал. – 1998. – Т. 6. – № 20. – С. 1326–1335.
44. Гончарова, Т.А. Энциклопедия лекарственных растений: Лечение травами / Т.А. Гончарова. – М.: МСП, 1997. – Т. 1. – 560 с.
45. Гордейчук, Т. Н. Использование полифенольных комплексов из дальневосточных дикоросов для восстановления функционального состояния печени при алкогольной интоксикации / Т.Н. Гордейчук, С.Е. Фоменко, Н.Ф. Кушнерова [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2002. – № 11.
46. Гордиенко, А.Д. Гепатопротекторный механизм действия флавоноидов. (обзор) /А.Д. Гордиенко // Фармация. – 1990. – № 3– С. 75–78.

47. ГОСТ 12.1.007–76. Межгосударственный стандарт. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – М: Стандартинформ, 2007. – 7 с.
48. ГОСТ 32373–2013. Методы испытаний по воздействию химической продукции на организм человека. Основные требования к проведению испытаний по оценке острой токсичности при накожном поступлении. – М: Стандартинформ, 2014. – 8 с.
49. ГОСТ 32644–2014. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности. – М: Стандартинформ, 2015. – 12 с.
50. ГОСТ 33044–2014. Принципы надлежащей лабораторной практики – М: Стандартинформ, 2015. – 16 с.
51. ГОСТ Р 9.804-2006. Единая система защиты от коррозии и старения (ЕСЗКС). Изделия и материалы. Методы лабораторных испытаний на стойкость к повреждению грызунами. – М.: Стандартинформ, 2007. – 17с.
52. Государственная фармакопея XIII издания в 3 томах, – М., 2015 г.
53. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс], электрон. дан. (2011), <http://grls.rosminzdrav.ru/grls.aspx>.
54. Грыдина, Н.М. Лекарственные растения лесов Закаменского района: методическая разработка / Н.М. Грыдина. – Закаменск, 2014. –39 с.
55. Гуськова, Т. А. Токсикология лекарственных средств / Т.А. Гуськова // М.: Русский врач. – 2003. – Т. 154.
56. Дерматовенерология: национальное руководство / Ю.С. Бутова, О.Л. Иванова; под ред. Ю.К. Скрипкина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 1024 с.
57. Дерматовенерология: учебник / В.В. Чеботарев, О.Б. Тамразова, Н.В. Чеботарева [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 584 с.
58. Дерматовенерология: Учебник для студ. высш. учеб. заведений / Е. В. Соколовский, Е. Р.Аравийская, К. Н. Монахов [и др.]; под ред. Е. В. Соколовского. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 528 с.

59. Дерматология: учебное пособие в 2 ч. Ч.2. / Неинфекционная дерматология; под ред. В.Г. Панкратова. – Минск: БГМУ, 2008. – С. 3–13.
60. Диковицкая, И. Г. Контактный дерматит: клиника и терапия / И.Г. Диковицкая, И.М. Корсунская, З.А. Невозинская // Современные проблемы дерматовенерологии, иммунологии и врачебной косметологии. – 2010. – Т. 4. – №. 4. – С. 49-51.
61. Доркина, Е.Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений / Е.Г. Доркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2004. – Т.67, № 6. – С. 41 – 44.
62. Дрозд, Г.А. Безопасность использования лекарственного растительного сырья / Г.А. Дрозд, Н.Г. Липцук // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. Сборник научных трудов. – Пятигорск, Вып. 62 – 2007. – С. 467–468.
63. Дубровский, Н. Г. Классификация и особенности демутиации залежной растительности Центральной Тувы / Н.Г. Дубровский, А.В. Ооржак, Б.Б. Намзалов // Вестник Челябинского государственного педагогического университета. – 2009. – № 2. 12. – С. 307–322.
64. Духанин, А. С., Шимановский, Н. Л. Актуальные вопросы применения ангиопротекторов / А.С. Духанин, Н.Л. Шимановский //Международный медицинский журнал. – 2015. – № 2 – С. 79–85.
65. Дюжакова, Е.С. Энциклопедия клинической дерматовенерологии / Е.С. Дюжакова, С.Э. Османов. – М.: Научная книга, 2013. – 410 с.
66. Ершик, В. М. Противовоспалительная активность соединений лантана / В.М. Ершик, В.В. Голубцов, В.И. Фадеев // Вестник фармации. – 2012. – № 1 (55). – С. 54–59.
67. Залкан, П. М. Экспериментальная модель аллергического дерматита / П.М. Залкан, Е.А. Иевлева // Актуальные вопросы профессиональной дерматологии. – М., – 1965. – 106 с.

68. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, [и др.]. – 3-е изд., перераб. и доп. – Киев: Вища школа, 1983 – 383 с.
69. Запрометов, М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях / М.Н. Запрометов. – М.: Наука, 1993. – 272 с.
70. Зверев, Я. Ф. Флавоноиды глазами фармаколога. Антиоксидантная и противовоспалительная активность / Я.Ф. Зверев //Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – №. 4. – С. 5–13.
71. Иванов, О.Л. Кожные и венерические болезни: Учебник / О.Л. Иванов, Н.С. Потекаев; под. ред. О.Л. Иванова. – М.: Шико, 2006. – 480 с.
72. Иллюстрированный определитель растений Средней России: в 3 т. / И. А. Губанов, К. В. Киселева, В. С. Новиков [и др.]. – М.: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2003. – Т. 2. – 665 с.
73. Кабишев, К.Э. Фитопрепараты в отечественной дерматологической практике / К.Э. Кабишев // Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. – 2005. – № 1. – С. 189–204.
74. Кабишев, К.Э. Определение экстрактивных веществ в лекарственном растительном сырье при различной технологии получения экстрактов / К.Э. Кабишев, Е.И. Саканян, Б.Л. Молдавер // Химия растительного сырья. – 2002. – Т. 38, – № 3. – С. 113–120.
75. Кадомцев, Д. В. Золетил-ксилазиновый наркоз в экспериментах у крыс / Д.В. Кадомцев, Е.А. Пасечникова, В.Г. Голубев // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 5–1.
76. Караулов, А. В. Клиническая иммунология и аллергология. / А. В. Караулов. – Изд. «Медицинское информационное агентство», 2002. – 651 с.
77. Каркищенко, Н. Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачев // М.: Профиль-2С, 2010. – 344 с.
78. Кищенко, В. М. Изучение ранозаживляющего действия дерматологических пленок с алоэ и актовегина в эксперименте / В.М. Кищенко, Э.Ф. Степанова,

- А.В. Воронков [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3. – С. 253-253.
79. Клиническая оценка лабораторных тестов: Пер. с англ./ Н.У. Тиц. – М.: Медицина, 1986, – 480 с.
80. Козловский, А. А. Атопический дерматит у детей / А.А. Козловский, Г.Д. Строева // Проблемы здоровья и экологии. – 2006. – № 2 (8). – С. 74–80.
81. Колесова, В.Г. Антиоксидантная терапия растениями / В.Г. Колесова, В.А. Дадали, В.И. Лойко [и др.] // Эфферентная терапия. – 1996. – Т.2. – № 1. – С. 67–70.
82. Комаров, В. Л. Монография рода *Caragana*. / В.Л. Комаров. – 1908.
83. Коржавых, Э.А. Российский рынок лекарственных форм: принципы сегментации и общая характеристика / Э.А. Коржавых // Новая аптека. – 2008. – № 4. – С. 34–39.
84. Корулькин, Д.Ю. Природные флавоноиды/ Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина [и др.]. – Рос. Акад. Наук, Сиб. Отд., Новосиб. Ин-т органической химии. – Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2007. – 232 с.
85. Кочергин, Н. Г. Аллергический контактный дерматит / Н.Г. Кочергин // Российский аллергологический журнал. – 2014. – №. 1. – С. 73-79.
86. Крендаль, Ф.П. Сравнительная характеристика препаратов из группы фитоадаптогенов – женьшеня, элеутерококка и родиолы розовой / Ф.П. Крендаль, С.В. Козин, Л.В. Левина. – М.: ПРОФИЛЬ, 2007. – 392 с.
87. Круглова, Л. С. Преимущества применения 0,05% бетаметазона дипропионата в форме спрея при лечении контактного и аллергического дерматитов / Л.С. Круглова, О.В. Жукова // Клиническая дерматология и венерология. – 2016. – Т. 15. – № 5. – С. 25–31.
88. Кряжева, С. С. Клинико–генетические особенности различных форм ихтиоза / С.С. Кряжева, И.Н. Ведрова, А.Ю. Елецкий // Вестник дерматологии – 1977. – № 9. – С. 17–22.

89. Кузина, З. А. Изучение эффективности изолирующего крема Барьердерм при дерматозах / З.А. Кузина, Л.А. Анисимова, О.А. Сидоренко [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 2014. – №. 4. – С. 89-92.
90. Кукес, В. Г. Клиническая фармакология. / В. Г. Кукес. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 1056 с.
91. Кукес, В. Г. Фитотерапия с основами клинической фармакологии / В.Г. Кукес. – Изд-во «Медицина», 1999. – 192 с.
92. Куркин, В.А. Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих и гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенилпропаноиды / В.А. Куркин, О.Л. Кулагин, Н.С. Додонов [и др.] // Растительные ресурсы. – 2008. – Т. 44. – № 1. – С. 122–130.
93. Куркин, В. А. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений / В.А. Куркин, А.В. Куркина, Е.В. Авдеева // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 11–9. – С. 1897-1901.
94. Куркин, В.А. Современные аспекты химической классификации биологически активных соединений лекарственных растений / В.А. Куркин // Фармация. 2002. – Т. 50. – № 2. – С. 8–16.
95. Кьосев, П.А. Полный справочник лекарственных растений / П.А. Кьосв. – М.: ЭКСМО-Пресс, 2001. – 992 с.
96. Лавренов, В.К. Энциклопедия лекарственных растений народной медицины / В.К. Лавренов, Г.В. Лавренова. – С.–Пб.: Издательский дом «Нева», 2003. – 272 с.
97. Лапин, А.А. Антиоксидантные свойства продуктов растительного происхождения / А.А. Лапин, М.Ф. Борисенков, А.П. Карманов [и др.] // Химия растительного сырья. – 2007. – № 2. – С. 79–83.
98. Лебеда, А.Ф. Лекарственные растения / А. Ф. Лебеда, Н. И. Джуренко, А. П. Исайкина [и др.]. – М.: «Самая полная энциклопедия», 2004. – 912 с.
99. Лебедев, В. П. Клиническая фитотерапия / В.П. Лебедев. – Новосибирск, 2003. – 368 с.

100. Лесиовская, Е.Е., Пастушенков, Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии: Учебное пособие / Е.Е. Лесиовская, Л.В. Пастушенков. – 2-е изд. – М.: «ГЭОТАР. МЕД», 2003. – 593 с.
101. Ломкина, Е. М. Влияние экстракта бархатцев на заживление ран при сахарном диабете / Е.М. Ломкина, Н.М. Червонная, Д.В. Куркин [и др.] // Фармация. – 2016. – Т. 65. – № 3. – С. 37–39.
102. Лоскутов, Р. И. Рост и развитие древесных растений рода *Caragana* Lam. Семейства Fabaceae Lindl. – бобовые в дендрарии института леса им. В. Н. Сукачева СО РАН (ИЛ СО РАН) (Красноярск, Академгородок) / Р.И. Лоскутов // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2012. – № 9. – С. 74–77.
103. Лукманова, К. А. Изучение ранозаживляющего действия твердых лекарственных форм иммунобиологических препаратов для местного применения / К.А. Лукманова, З.З. Янгирова, Н.Х. Салихова [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. – Т. 67. – № 3. – С. 73–75.
104. Лусс, Л. В. Современные проблемы диагностики и терапии аллергического контактного дерматита / Л.В. Лусс // Доктор. Ру. – 2009. – №. 2. – С. 63-90.
105. Малинка, В. Российский рынок лекарственных трав и сборов / В. Малинка, Е. Жданова // Ремедиум. 2000– № 4. – С. 38–47.
106. Машковский, М. Д. Лекарственные средства: пособие для врачей / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2005. – 505 с.
107. Меньщикова, Е. Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – №. 4. – С. 442-455.
108. Методические указания о порядке доклинического и клинического изучения препаратов природного происхождения и гомеопатических лекарственных средств: Утв. М-вом здравоохранения и мед. пром-сти Рос. Федерации от 08.04.94 / М-во здравоохранения и мед. пром-сти РФ. Упр. гос. контроля качества лекарств. средств и мед. техники; [Подгот.: В. Г. Кукес и др.]. – М., 1994. – 64 с.

109. Минаева, В. Г. Лекарственные растения Сибири / Минаева, В. Г. – 5-е изд., перераб. и доп. – Новосибирск: Наука. – 1991.
110. Минаева, В.Г. К вопросу о Р-витаминной активности володушки многожилчатой / В.Г. Минаева, А.С. Лапик // Интродукция и акклиматизация растений. – 1961. – Т. 5 – С. 83–87.
111. Минушкин, О.Н. Некоторые гепатопротекторы в лечении заболеваний печени / О.Н. Минушкин // Лечащий врач. – 2002. – № 6. – С. 55–58.
112. Михальчик Е. В. Антиоксидантные ферменты кожи при экспериментальных ожогах / Е.В. Михальчик, С.М. Титкова, М.В. Ануров // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52. – №. 6. – С. 576-586.
113. Монакова, К.Н., Методика определения реактивности капилляров кожи к воспалительным раздражителям и некоторые применения этой методики: автореф. дис. ...канд. мед. наук. – Сталинабад, 1956. – 13 с.
114. Мухаммед, А. А. Исследование гиполипидемических свойств веществ природного происхождения на основе чеснока, растительных масел и пищевых волокон: Дис. ... канд. фарм. наук: 14.03.06 / Мухаммед Ариж Абделькаримовна. – М., 2014. – 164 с.
115. Мухаммед, А. А. Исследование гиполипидемических свойств чеснока, растительных масел на примере оливкового, льняного и амарантового, а также пищевых волокон на примере пектина, альгината и хитозана / А.А. Мухаммед, М.Л. Максимов // Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – № 1. – С. 50-74.
116. Николаев, С. М. Оценка фармакотерапевтического действия гиполипидемического сбора / С.М. Николаев, Г.Т. Намсарава, Э.Г. Найданова // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2003. – Т. 37. – № 2. – С. 54-57.
117. Новиков, Д. К. Побочные аллергические реакции на лекарства и медикаменты в дерматологии / Д.К. Новиков, Ю.В. Сергеев, П.Д. Новиков [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2003. – № 3. – С. 45–67.

118. Ооржак, А. В. К характеристике флористического комплекса залежной растительности Тывы / А.В. Ооржак, Н.Г. Дубровский // Вестник Бурятского государственного университета. – 2007. – № 3. 11. – С. 169–172.
119. Павлова, П. А. Интродукционное испытание растений из семейства бобовых (Fabaceae Lindl.) / П.А. Павлова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2015. – № 5 (127). – С. 95–99.
120. Пампура, А. Н. Современные подходы к терапии атопического дерматита у детей / А.Н. Пампура, А.А. Чусляева // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т. 9. – № 1. – С. 93–98.
121. Партилтаев, В. В. Содержание фенольных соединений в побегах сибирских видов *Caragana* / В.В. Партилтаев, Л.М. Танхаева, Д.Н. Оленников // Химия растительного сырья. – 2013. – № 1. – С. 143–150.
122. Патент ЕАПО № 201201093, 06.12.2012. Противовоспалительное средство для лечения контактного дерматита // Патент ЕАПО № 021712. 2013. Бюл. № 12 / Ершик, В.М, Фарбер В.Л., Фадеев В.И., Чиркин А.А.
123. Патент РФ № 2011149734/15, 07.12.2011. Способ получения водных экстрактов из растительного сырья с повышенным содержанием извлекаемых активных веществ // Патент России № 2473356. 2013. Бюл. № 3 / Саргин Б. В., Бобков Г.В., Павлов С.А.
124. Патент РФ № 2012134159/15, 09.08.2012. Средство для лечения ран и ожогов // Патент России № 2513186. 2014. Бюл. № 11 / Костырко Я.А, Алексеев К.В., Петрова Е.Н. [и др].
125. Перламутров, Ю. Н. Терапия зуда при аллергических заболеваниях кожи / Ю.Н. Перламутров, К.Б. Ольховская // Российский аллергологический журнал. – 2014. – №. 1. – С. 69-72.
126. Перова, И. Б. Биологически активные вещества плодов калины обыкновенной / И.Б. Перова, А.А. Жогова, А.В. Черкашин [и др.] // Химико–фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48. – № 5. – С. 32–39.
127. Петрова, С. С. Влияние растительного средства «Диккар» на выраженность повреждений слизистой оболочки желудка у белых крыс на фоне иммобили-

- зационного стресса / С.С. Петрова, Д.Б. Гатыпова, А.С. Тулесонова [и др.] // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2009. – № 2. – С. 283–284.
128. Полещук, В. А. Распространение и биологическая продуктивность караганы уссурийской (*Caragana ussuriensis* (Regel) Pojark) в дубовых лесах Южного Приморья / В.А. Полещук // Сибирский экологический журнал. – 2011. – Т. 18. – № 3. – С. 431–437.
 129. Приказ Минздрава России от 01.04.2016 N 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» (Зарегистрировано в Минюсте России 15.08.2016 N 43232).
 130. Рабен, А.С. Профессиональная дерматология // А.С. Рабен, А.А. Антоньев. М.: Медицина, 1975. – 319 с.
 131. Рабен, А.С. Экспериментальный аллергический контактный дерматит / А.С. Рабен, О.Г. Алексева, Т.А. Дугева. – М.: Медицина, 1970. – 190 с.
 132. Раменская, Г.В. Обзор требований к валидации биоаналитических методик / Г.В. Раменская, И.Е. Шохин, А.Ю. Савченко // Ремедиум. – 2011. – № 12. – С. 53–58.
 133. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование: Сем. Hydrangeaceae–Haloragaceae / под ред. П.Д. Соколова. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.
 134. Ревякин, А. О. Моделирование лекарственного токсического гепатита на крысах / А.О. Ревякин, Г.Д. Капанадзе, Н.В. Касинская [и др.] // Биомедицина. – 2014. – Т. 1. – № 1. – С. 52–53.
 135. Ревякина, В. А. Ранняя диагностика, особенности клинического течения и принципы терапии атопического дерматита у детей / В.А. Ревякина, И.И. Балаболкин, Л.С. Намазова. – М.: НИИ педиатрии РАМН, 1998. – 28 с.
 136. Роговский, В. С. Антигипертензивная и нейропротекторная активность кверцетина и его производных / В.С. Роговский, Н.Л. Шимановский, А.И. Матюшин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75. – № 9. – С. 37–41.

137. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. В.П. Фисенко. – М.: ЗАО «ИАИ «Ремедиум», 2000. – 398 с.
138. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева – 2 изд. перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
139. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова– Часть первая – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
140. Рыбакова, Е. Д. Перспективы внедрения и использования караганы гривастой – растения, применяемого в этномедицине Тувы / Е. Д. Рыбакова, Л. А. Павлова, С. В. Козин // Мат. I междун. науч. конф. «Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы». – Новосибирск. – 2013. – С. 504–505.
141. Рыбакова, Е. Д. Фармакогностическое изучение листьев и травы караганы гривастой *Caragana jubata* (fabaceae) / Е.Д. Рыбакова, Л.А. Павлова, А.В. Стреляева // Традиционная медицина. – 2014. – № 4. – С. 48–51.
142. РД-АПК 3.10.07.02-09 Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений. – М.: Министерство сельского хозяйства РФ, 2009. – 29 с.
143. Саканян, Е. И. Современные подходы к оценке эффективности и безопасности лекарственных средств растительного происхождения в России и за рубежом / Е.И. Саканян, Т.Б. Шемерянкина, Ю.К. Малкина [и др.] // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2015. – № 1. – С. 35–39.
144. Самцов, А.В. Дерматовенерология: учебник для медицинских вузов / А.В. Самцов, В.В. Барбинов. – СПб.: СпецЛит, 2008. – 352 с.
145. Сапожников, А.Г. Гистологическая и микроскопическая техника / А.Г. Сапожников, А.Е. Доросевич. – Смоленск, 2000. – 475 с.

146. Саратиков, А. С. Гепатопротективные свойства полифенольных комплексов из древесины и клеточной культуры маакии амурской / А.С. Саратиков, В.С. Чучалин, А.В. Ратькин [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – Т. 7. – № 1. – С. 51–55.
147. Сёмкина, О. А. Мази, гели, линименты и кремы, содержащие фитопрепараты (обзор) / О.А. Сёмкина // Химико-фармацевтический журнал. – 2005. – Т. 39. – № 7. – С. 30–36.
148. Скрипкин, Ю.К. Кожные и венерические болезни: учебник / Ю.К. Скрипкин, А.А. Кубанова, В.Г. Акимов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 544 с.
149. Смирнов, В. С. Влияние комбинированного препарата глицирризиновой кислоты и глутамил-триптофана на течение контактного дерматита у крыс / В.С. Смирнов, Т.Н. Саватеева-Любимова, А.В. Саватев // Вестник дерматологии и венерологии. – 2013. – № 5. – С. 124–131.
150. Смирнова, И. П. Использование растительных экстрактов в создании лекарственных средств разной терапевтической направленности / И.П. Смирнова, О.А. Сёмкина, О.В. Бондаренко // Антибиотики и химиотерапия. – 2016. – Т. 61. – №. 3-4. – С. 30–34.
151. Соколов, П. Д. Таннидоносные растения Центральных Саян (Труды Ботанического института АН СССР, сер. V) / П.Д. Соколов. – Ленинград: Акад. наук СССР, 1961. – 299 с.
152. Соколов, С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: руководство для врачей / С.Я. Соколов. – М.: Медицинское информационное агентство, – 2001, – 976 с.
153. Спасов, А. А. Влияние мази минерала бишофит на течение контактного аллергического дерматита, вызванного 2,4–динитрохлорбензолом / А.А. Спасов, Л.С. Мазанова, А.А. Мотов [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 72. – № 3. – С. 37–39.
154. Страчунский, Л. С. Глюкокортикоидные препараты / Л.С. Страчунский, С.Н. Козловский. – 2-е изд., доп. – Смоленск: Смол. гос. мед. акад., 1997. – 48 с.

155. Счастливая, Н. И. Морфофункциональная характеристика различных моделей экспериментального дерматита / Н.И. Счастливая, Т.Е. Кузнецова // Фундаментальные науки – медицине. В 2 ч. Часть 2, 2017. – 296 с.
156. Телятьев, В.В. Полезные растения Центральной Сибири / В.В. Телятьев. – Иркутск: Восточно-Сибирское книжное издательство, 1985. – 383 с.
157. Телятьев, В.В. Целебные клады Восточной Сибири / В.В. Телятьев. – Иркутск: Восточно-Сибирское книжное издательство, 1976. – 447 с.
158. Терёшкина, О. И. Влияние состава современного лекарственного растительного препарата на безопасность его применения в дерматологии / О.И. Терёшкина, Г.В. Раменская // Вестник ЮКГФА. – 2014. – № 3(68). – Т. 2. – С. 57.
159. Токсанбаева, Ж. С. Лекарственные растения, применяемые в дерматологии / Ж.С. Токсанбаева, А.Н. Калманбаева // Вестник ЮКГФА. – 2011. – № 2. – С. 152–154.
160. Трахтенберг, И.М. Проблемы нормы в токсикологии / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель. – М.: Медицина, 1991. – 208 с.
161. Турсыматова, О. И. Биологическая активность флавоноидов / О.И. Турсыматова, М.М. Дильмаханова // Наука и Мир. – 2015. – Т. 1. – №. 5. – С. 28-29.
162. Умаров, А. Фитохимическое исследование караганы гривастой: автореф. дис. ... к. фарм. н.: 15.00.03. – Ленинград, 1976. – 20 с.
163. Умаров, А. Фитохимическое изучение растения карагана гривастая / А. Умаров, А.М. Халецкий // Труды Ленинградского химико-фармацевтического института. Л. – 1969. – № 28. – С. 103–109.
164. Ухина, Т. В. Влияние разных лекарственных форм прогестерона на перекисное окисление липидов и редокс-систему глутатиона в тканях кожи крыс при экспериментальном дерматите / Т.В. Ухина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2000. – Т. 129. – № 23. – С. 186–188.
165. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Справочник / В.Г. Макаров, М.Н. Макарова. – СПб: Из-во «ЛЕМА», 2013. – 116 с.

166. Феденко, Е. С. Аллергический контактный дерматит / Е.С. Феденко // *Consilium medicum*. – 2004. – Т. 6. – № 3. – С. 164–166.
167. Феденко, Е. С. Федеральные клинические рекомендации. Аллергический контактный дерматит (L23) / Е.С. Феденко, О.Г. Елисютина // *Российский ал-лергологический журнал*. – 2016. – №. 6. – С. 52-57.
168. Федеральное руководство по использованию лекарственных средств (форму-лярная система). Выпуск XVII. – М: Видокс, 2016. – 1045 с.
169. Федеральный реестр биологически активных добавок (БАДы) [Электронный ресурс], электрон. дан. (2012), <http://www.ros-med.info/bad>.
170. Федоскова, Т. Г. Аллергические заболевания в клинической практике / Т.Г. Федоскова, Н.И. Ильина // *Русский мед. журнал*. – 2005. – Т. 13. – № 15. – С. 1022–1029.
171. Федотов, В. П. Фотодерматозы (клиническая лекция) / В.П. Федотов // *Дер-матовенерология. Косметология. Сексопатология*. – 2015. – Т. 3. – С. 143–157.
172. Филиппова, И. А. Рынок растительных лекарственных препаратов: пробле-мы, перспективы, приоритеты / И.А. Филиппова // *Ремедиум*. – 2015. – № 7–8. – С. 15–17.
173. Флора Сибири: Fabaceae / А.В. Положий, С.Н. Выдрина, В.И. Курбатский [и др.]: В 14 т. – Новосибирск: ВО «Наука», Сибирская издательская фирма, 1994. – Т. 9. – 280 с.
174. Фоменко, С. Е. Гепатопротекторная активность экстракта из ягод жимолости при интоксикации четыреххлористым углеродом у крыс / С.Е. Фоменко Н.Ф. Кушнерова, В.Г. Спрыгин [и др.] // *Экспериментальная и клиническая фар-макология*. – 2014. – Т. 77. – № 10. – С. 26–30.
175. Фролова, Н. Ю. Методические подходы к экспериментальному изучению дерматотропных средств / Н.Ю. Фролова, Т.И. Мельникова, А.В. Бурякина // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2009. – Т. 72. – № 5. – С. 56–60.

176. Хаитов, Р.М. Аллергология и иммунология: национальное руководство / Р.М. Хаитов, Н.И. Ильина – М.: ГЭОТАР - Медиа, 2009. - 656 с.
177. Хаитов, Р.М. Иммунология: учебник / Р.М. Хаитов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2013. – 528 с.
178. Харкевич, Д.А. Фармакология: учебник / Д.А. Харкевич. – 10-е изд., испр., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР – Медиа. 2010. – 752 с.
179. Хасаншина, А. Р. Ботанико-фармакогностическое изучение караганы древовидной (*Caragana arborescens* Lam.): автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Хасаншина Алиса Рашидовна. – М., 2010. – 24 с.
180. Холявко, В.С. Дендрология и основы зеленого строительства / В.С. Холявко, Д.А. Глоба-Михайленко. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1988. – 287 с.
181. Цыдендамбаев, П. Б. Биологические эффекты флавоноидов / П.Б. Цыдендамбаев, Б.С. Хышиктуев, С.М. Николаев // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАМН. – 2006. – № 6. – С. 229–233.
182. Чехани, Н. Р. Антиоксидантная активность растений, используемых в этно-медицине Тувы / Н.Р. Чехани, Ю.О. Теселкин, Л.А. Павлова [и др.] // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2012. – № 6. – С. 66–68.
183. Чиков, П. С. Атлас ареалов и ресурсов лекарственных растений РФ / П.С. Чиков. – М.: Картография, 2003. – 340 с.
184. Чинбатын, С. Род *Caragana* Lam. Систематика, экология, география, история развития и хозяйственное значение): автореф. дис.... д. биол. наук.: 03.00.05 / Санчир Чинбантын. – СПб, 1997. – 34 с.
185. Чиндяева, Л. Н. Сибирские караганы (*Caragana* Fabg.): опыт интродукции и перспективы использования в озеленении Новосибирска / Л. Н. Чиндяева, Т. И. Киселева / Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сб. науч. ст. по материалам XV междунар. науч.-практ. конф. – Барнаул. – 2016. – С. 284–290.

186. Шелепова, О. В. Перспективы использования в фитотерапии некоторых инвазионных видов семейства бобовые / О.В. Шелепова, А.Г. Куклина, Ю.К. Виноградова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2015. – № 114. – С. 1–16.
187. Шпекина, Г.А. Применение видов рода карагана в народной и восточной медицине и их химический состав / Г.А. Шпекина, А.Е. Половинко // Труды II Молодежной конференции ботаников г. Ленинграда. – 1988. – Ч. 3. – С. 195–214.
188. Шпекина, Г.А. Флавоноиды *Caragana spinosa* / Г.А. Шпекина // Химия природных соединений. – 1990. – № 1. – С. 117–118.
189. Якушенко, С.В. Эффективность лечения простого маргинального гингивита отваром караганы гривастой по данным цитологического исследования десневой жидкости / С.В. Якушенко, Т.П. Зюбр, А.В. Белоусов // Актуальные проблемы клинической и экспериментальной медицины: мат. Всерос. науч.-практ. конф., 1–3 октября 2008 г. – Чита, 2008. – С. 161–162.
190. Якушенко, С.В. Сравнительная оценка эффективности лечения гингивита препаратами на основе коры дуба и караганы гривастой: автореф. дис. ... канд. мед. наук.: 14.00.21 / Якушенко Светлана Владимировна. – Иркутск, 2008. – 18 с.
191. Яценков, А.И. Гепатопротективное действие полярных липидов пантов марала и торфа при экспериментальном поражении печени изониазидом и парацетамолом / А.И. Яценков // Бюллетень сибирской медицины. – 2013. – Т. 12 – № 1. – С. 80 – 86.
192. Яценко, А.М. Лектин караганы древовидной – маркер миоэпителиоцитов слюнных желез / А.М. Яценко, В.А. Антонюк // Морфология. – 1999. – № 4. – С. 48–51.
193. Baba, K. Stilbenoids from *Cassia garrettiana* K. Baba, T. Kido, M. Taniguchi [et al.] // Phytochemistry. – 1994. – Vol. 36. – N 6. – P. 1509–1513.

194. Bhardwaj, P. K. Braving the attitude of altitude: *Caragana jubata* at work in cold desert of Himalaya / P.K. Bhardwaj, R. Kapoor, D. Mala // Scientific reports. – 2013. – Vol. 3. – P. 1022.
195. Bhardwaj, P. K. Lipxygenase in *Caragana jubata* responds to low temperature, abscisic acid, methyl jasmonate and salicylic acid / P.K. Bhardwaj, J. Kaur, R.C. Solt [et al.] // Gene. – 2011. – Vol. 483. – N 1. – P. 49–53.
196. Bioactive dietary factors and plant extracts in dermatology / eds. R.R. Watson, S. Zibadi. – New York: Humana Press, 2013. – 538 p.
197. Boinik, V. V. Flavonoids of *Caragana arborescens* / V.V. Boinik, N.V. Batyuk, V.N. Kovalev // Chemistry of Natural Compounds. – 1986. – Vol. 22. – N 3. – P. 351–351.
198. Bradley, P. P. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker / P.P. Bradley, D.A. Priebat, R.D. Christensen [et al.] // Journal of Investigative Dermatology. – 1982. – Vol. 78. – N 3. – P. 206–209.
199. Businco, L. From atopic dermatitis to asthma: The risk factors and preventive measures / L. Businco, P. Falconieri, A. Di Rienzo [et al.] // Pediat. Pulmonol. 1997. – N 16. – P. 19–20.
200. Calapai, G. Contact dermatitis as an adverse reaction to some topically used European herbal medicinal products – Part 3: *Mentha* × *piperita*–*Solanum dulcamara* / G. Calapai, M. Miroddi, P.L. Minciullo [et al.] // Contact dermatitis. – 2016. – Vol. 74. – N 3. – P. 131.
201. *Caragana jubata* [Электронный ресурс] / Plants for future: database search results. <https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Caragana+jubata>
202. Chen, S. Q. Quercitrin extracted from Tartary buckwheat alleviates imiquimod-induced psoriasis-like dermatitis in mice by inhibiting the Th17 cell response / S. Chen, H. Li, Y. Liu [et al.] // Journal of Functional Foods. – 2017. – Vol. 38. – P. 9–19.

203. Cui, Y. Y. Zeolitic imidazolate framework-8 for selective extraction of a highly active anti-oxidant flavonoid from *Caragana Jubata* / Y.Y. Cui, C.X. Yang, X.D. Yang [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2018. – Vol. 1544. – P. 8-15.
204. Doc. Ref. EMEA/HMPC/317913/2006 Committee on herbal medicinal products (HMPC) final reflection paper on the risk-associated furocoumarins contained in preparations of *Angelica archangelica*, London, 31 October 2007.
205. Dresch, M. T. Optimization and validation of an alternative method to evaluate total reactive antioxidant potential / M.T. Dresch, S.B. Rossato, V.D. Kappel [et al.] // *Analytical biochemistry*. – 2009. – Vol. 385. – N 1. – P. 107–114.
206. Değim, Z. An investigation on skin wound healing in mice with a taurine–chitosan gel formulation / Z. Değim, N. Celebi, H. Sayan [et al.] // *Amino acids*. – 2002. – Vol. 22. – N2. – P. 187–198.
207. Elias, P. M. Basis for the barrier abnormality in atopic dermatitis: outside-inside-outside pathogenic mechanisms / P.M. Elias, Y. Hatano, M.L. Williams // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2008. – Vol. 121. – N 6. – P. 1337–1343.
208. *Encyclopedia of Dietary Supplements* / P. M. Coates (ed.). – CRC Press, 2004. – 580 p.
209. *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123)*. – Strasbourg, 1986. – 11 p.
210. Frosch, P.J. Patch testing with fragrances: results of a multicenter study of the European Environmental and Contact Dermatitis Research Group with 48 frequently used constituents of perfumes / P.J. Frosch, B. Pilz, K.E. Andersen [et al.] // *Contact Dermatitis*. – 1995. – Vol. 33. – N 5. – P. 333–342.
211. Fuchs, J. Skin antiinflammatory activity of apigenin–7–glucoside in rats / J. Fuchs, R. Milbradt // *Arzneimittel-Forschung*. – 1993. – Vol. 43. – N 3. – P. 370–372.
212. Kay, J. The prevalence of childhood atopic eczema in a general population / J. Kay, D.J. Gawkrödger, M.J. Mortimer [et al.] // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 1994. – Vol. 30. – N 1. – P. 35–39.
213. Kim, H. Effect of *Sophora flavescens* Aiton extract on degranulation of mast cells and contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene in mice / H. Kim, M.R.

- Lee, G. San Lee [et al.] // Journal of ethnopharmacology. – 2012. – Vol. 142. – N. 1. – P. 253–258.
214. Knodell, R. G. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis / R.G. Knodell, K.G. Ishak, W.C. Black [et al.] // Hepatology. – 1981. – Vol. 1. – N 5. – P. 431-435.
215. Kurahashi, T. Roles of antioxidative enzymes in wound healing / T. Kurahashi, J. Fujii // Journal of Developmental Biology. – 2015. – Vol. 3. – №. 2. – P. 57-70.
216. Lee J. H. Suppression of LPS-induced Inflammatory Re-sponses by ethanolic extracts from *Salix paraplesia* CK Schneid. and *Caragana jubata* (Pall.) Poir. via Inhibition of Akt/NF- κ B Signaling Pathways in RAW264. 7 Cells / J.H. Lee, K. Whang, S.O. Lee // Journal of the Korean Society of Food Science. 2016 KFN International Symposium and Annual Meeting. – 2016. – P. 473-473.
217. Lee, J. Y. Antioxidant activity of phenylpropanoid esters isolated and identified from *Platycodon grandiflorum* A. / J.Y. Lee, J.W. Yoon, C.T. Kim [et al.] // Phytochemistry. – 2004 – Vol. 65. – P. 3033–3039.
218. Li, W. Kaempferol induces apoptosis in human HCT116 colon cancer cells via the Ataxia-Telangiectasia Mutated-p53 pathway with the involvement of p53 Upregulated Modulator of Apoptosis / W. Li, B. Du, T. Wang [et al.] // Chemico-Biological Interactions. – 2009. – Vol. 177. – N 2. – P. 121-127.
219. Liu, J. Recent advances in the study of antioxidative effects of Chinese medicinal plants / J. Liu, P.G. Xiao // Phytotherapy Research. – 1994. – Vol. 8. – N 8. – P. 445–451.
220. Lowry, O. H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr [et all.] // Journal of biological chemistry. – 1951. – Vol. 193. – N 1. – P. 265-275.
221. Meng, Q. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of the genus *Caragana* used in traditional Chinese medicine / Q. Meng, Y. Niu, X. Niu [et al.] // Journal of ethnopharmacology. – 2009. – Vol. 124. – N. 3. – P. 350–368.

222. Shortt, K. B. A review of the biology of the weedy Siberian peashrub, *Caragana arborescens*, with an emphasis on its potential effects in North America / K.B. Shortt, S.M. Vamosi // Botanical Studies. – 2012. – Vol. 53. – N 1. – P. 1–8.
223. Song, P. New chemical compound from *Caragana jubata* (pall.) Poir. / P. Song, X.Z. Yang, J. Yu // Chemical Research in Chinese Universities. – 2010. – Vol. 26. – N 4. – P. 563–566.
224. Sun, G. Effect of orally administered *Eriobotrya japonica* seed extract on allergic contact dermatitis in rats / G. Sun, Y. Zhang, D. Takuma [et al.] // Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2007. – Vol. 59. – N. 10. – P. 1405–1412.
225. Sun, X. Isoflavones and pterocarpanes from *Caragana changduensis* / X. Sun, C. He, X. Yang [et al.] // Biochemical Systematics and Ecology. – 2015. – Vol. 61. – P. 516–519.
226. Umarov, A. Flavonols of *Caragana jubata* / A. Umarov, V.S. Batyuk, A.M. Khaletskii // Chemistry of Natural Compounds. – 1971. – Vol. 7. – N 4. – P. 499–500.
227. Wang, L. Distinctive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonols / L. Wang, Y.C. Tu, T.W. Lian [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2006. – Vol. 54. – N 26. – P. 9798–9804.
228. Wang, S. Three new compounds from the aerial parts of *Caragana sinica* / S. Wang, D. Ma, C. Hu // Helvetica chimica acta. – 2005. – Vol. 88. – N. 8. – P. 2315–2321.
229. Weng, Z. Quercetin is more effective than cromolyn in blocking human mast cell cytokine release and inhibits contact dermatitis and photosensitivity in humans / Z. Weng, B. Zhang, S. Asadi [et al.] // PloS one. – 2012. – Vol. 7. – N 3. – P. 33–39.
230. WHO guidelines on safety monitoring of herbal medicines in pharmacovigilance systems – Geneva, 2004.
231. Zhang, M. Phylogeny of *Caragana* (Fabaceae) based on DNA sequence data from *rbcL*, *trnS–trnG*, and ITS / M. Zhang, P.W. Fritsch, B.C. Cruz // Molecular phylogenetics and evolution. – 2009. – Vol. 50. – N 3. – P. 547–559.

232. Zhu, L. Frontal affinity chromatography combined on-line with mass spectrometry: a tool for the binding study of different epidermal growth factor receptor inhibitors / L Zhu, L Chen, H. Luo [et al.] // Analytical chemistry. – 2003. – Vol. 75. – N 23. – P. 6388–6393.
233. Zhu L. Selective separation of active inhibitors of epidermal growth factor receptor from *Caragana Jubata* by molecularly imprinted solid-phase extraction / L. Zhu, X. Xu // Journal of Chromatography A. – 2003. – Vol. 991. – N. 2. – P. 151–158.