

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

На правах рукописи



ДИМИТРОВ ОЛЕГ ГЕОРГИЕВИЧ

**ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
«ТЕТРАФИТОНА» ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЯХ**

14.03.06 -фармакология, клиническая фармакология

**ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

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

Улан-Удэ – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	5
ГЛАВА 1. АДАПТАЦИЯ И СРЕДСТВА, ОБЛАДАЮЩИЕ АДАПТОГЕН-	
НОЙ АКТИВНОСТЬЮ.....	12
1.1.От эустресса к дистрессу и устойчивой патологии.....	12
1.2.Сведения о средствах растительного происхождения, обладающих адап-	19
тогенной активностью	
1.3.Сведения о «тетрафитоне» и его компонентах.....	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	
2.1.Характеристика испытуемого средства.....	36
2.2.Лабораторные животные и условия опыта	37
2.3 Модели стресса и методы исследования	37
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ	
КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА «ТЕТРАФИ-	43
ТОН».....	
3.1. Изучение острой токсичности «тетрафитона».....	43
3.2. Влияние «тетрафитона» на функциональное состояние центральной	43
нервной системы.....	
3.2.1. Влияние на поведенческую активность крыс в тесте «открытое по-	43
ле».....	
3.2.2 Влияние на поведенческую активность животных в тесте «приподня-	45
тый крестообразный лабиринт».....	
3.2.3. Влияние на выработку условной реакции пассивного избега-	46
ния.....	
3.2.4. Влияние на поведение крыс в конфликтной ситуации по	48
Vogel.....	
3.3. Исследование антигипоксической активности «тетрафитона».....	49
3.3.1. Влияние на устойчивость к острой гемической гипок-	49

сии.....	
3.3.2. Влияние на устойчивость к острой тканевой гипок- сии.....	50
3.3.3. Влияние на устойчивость к острой нормобарической гипоксии с ги- перкапнией.....	51
3.4. Исследование актопротекторной активности «тетрафитона» в teste вы- нужденного плавания.....	53
3.5. Изучение анаболического действия «тетрафитона».....	56
ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕК- ТИВНОСТИ «ТЕТРАФИТОНА» ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЯХ.....	60
4.1.Стресспротективное действие «тетрафитона» на модели острого иммо- билизационного стресса.....	60
4.2.Стресспротективное действие «тетрафитона» на модели хронического умеренного стресса.....	63
ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ «ТЕТРАФИТОНА».....	74
5.1.Влияние на состояние макрофагального звена иммунитета.....	74
5.2.Влияние на клеточное звено иммунитета.....	75
5.3. Влияние на гуморальное звено иммунитета.....	76
ГЛАВА 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАЗИСНЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТОГЕН- НОГО ДЕЙСТВИЯ «ТЕТРАФИТОНА».....	78
6.1. Изучение мемраностабилизирующей активности «тетрафитона»	78
6.2. Исследование антиоксидантной активности «тетрафитона» и его ком- понентов.....	79
6.2.1. Исследование антирадикальной активности.....	79
6.2.2. Определение Fe^{2+} -хелатирующей активности	81
6.2.3. Антиоксидантная активность в системе β -каротин-олеиновая кислота-	82

H ₂ O ₂ -ДМСО (СВА).....	
6.3. Влияние «тетрафитона» на активность ферментов в модельной системе <i>in vitro</i>	84
ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	85
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	97
ВЫВОДЫ.....	100
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	103

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Современные условия жизни характеризуются возрастанием стрессорных нагрузок в разных сферах деятельности человека: чрезмерных потоков информации, повышения интенсивности труда, ухудшения экологической обстановки, гиподинамии и гипокинезии, отсутствия стабильности и уверенности в будущем и т. д. Если действие стрессора чрезмерно по силе или длительности, а также при наличии врожденных или приобретенных дефектов стресс-лимитирующих систем развивается дистресс, сопровождающийся формированием дисрегуляции в одной или нескольких онтогенетически ослабленных физиологических систем организма. При неблагоприятном развитии ситуации дистресс переходит в устойчивое патологическое состояние – болезнь адаптации (Крыжановский Г.Н., 2002, Овсянников В.И., 2010; Фесенко Ю.А. и др., 2014; Аниховская И.А. и др., 2015; Торгашов М.Н., 2016; Kulakova S.N. et al., 2015). В настоящее время доказана ведущая роль стресса в развитии депрессии, сосудистых заболеваний мозга, ишемической болезни сердца, гипертонической болезни, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, метаболического синдрома, сахарного диабета, иммунодефицитных состояний и злокачественных опухолей (Хныченко Л.К., 2003; Ромасенко Л. В. и др., 2012; Кириченко Н.Н. и др., 2012; Салехов С.А. и др., 2016; Должиков А.А., 2017; Jason L.A. et al., 2010; Bergh C. et al, 2015). Распространенность стресс-индуцированной патологии в общей популяции, по разным оценкам, может составлять более 2% (Кириченко Н.Н. и др., 2012; Зайков С.В. и др., 2013; Зайцева Н.С., 2016; Vecchiet J., 2003). Увеличение пенсионного возраста повышает требования к психическому и физическому здоровью населения и делает особенно актуальной решение проблемы нивелирования и профилактики патогенного влияния стресса и повышения неспецифической резистентности человека к неблагоприятным факторам окружающей среды. Повышение физической, умственной работоспособности, психической выносливости человека, продление периода активной старости и, в целом,

продолжительности жизни является остройшей социальной и медицинской проблемой.

Возможность достижения организмом состояния неспецифически повышенной сопротивляемости (СНПС) к широкому спектру повреждающих воздействий путем введения в организм фармакологических средств - адаптогенов, была впервые доказана выдающимся советским фармакологом профессором Н.В. Лазаревым в середине прошлого века (Лазарев Н.В., 1959). В настоящее время интерес к фармакологическим средствам, обладающим адаптогенными свойствами растет во всем мире (Panossian et al, 2010; Wong et al, 2011; D.R. de Oliveira and S.G. Leitão, 2016; Perry N.L., 2017). Растительные адаптогены могут использоваться здоровыми людьми для улучшения когнитивных и физических показателей или в качестве гериатрических агентов для предотвращения или сведения к минимуму физических и когнитивных нарушений, возникающих в результате старения (Mendes F., 2011; Allbaracin S.L et al, 2012; Trofimiuk E. and J. J. Braszko, 2015). Особо важное значение имеют адаптогены в профилактике и лечении профессиональных заболеваний, вызванных различными неблагоприятными производственными факторами. Большой интерес для широкого круга людей вызывают растительные средства, известные как афродизиаки (сексуальные, энергетические или омолаживающие стимуляторы), или психостимуляторы, повышающие умственную работоспособность, активирующие процессы внимания и памяти.

Преимуществом растительных средств является широкий спектр фармакологической активности в сочетании с низкой токсичностью и возможностью длительного применения без риска развития негативных побочных эффектов.

Проблема повышения сопротивляемости организма к экстремальным климатическим условиям, повышения физической и умственной работоспособности в традиционной тибетской медицине решалась с помощью укрепляющих средств, называемых «жудлэны». «Жудлэны» назначались при астенических состояниях, для лечения ослабленных хронических больных, в период реконвалесценции, а

также лицам преклонного возраста в качестве средств, «дающих долголетие и здоровье» (Чжуд-ши, 2000). Для разработки средства, обладающего адаптогенной активностью, в качестве прототипа была использована рецептурная пропись многокомпонентного сбора «зо-мо-шинг-дуг-тан» (Кунпан-дудзи, 2008). В Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН на основе указанной рецептуры был разработан экстракт сухой с условным названием «тетрафитон», в состав которого входят корневища и корни *Inula helenium* L., *Zingiber officinale* Roscoe, плоды *Elettaria cardamomum* Maton., побегов *Caragana spinosa* (L.) Wall ex Hornem.

Степень разработанности темы исследования. В настоящее время в клинической практике используется ряд фармакопейных препаратов растительного происхождения, обладающих адаптогенными свойствами (препараты женьшеня, элеутерококка, родиолы розовой, аралии маньчурской, левзеи сафлоровидной и др.). Установлено, что данные средства способствуют повышению неспецифической сопротивляемости к широкому спектру экстремальных воздействий (Дардылов И.В., 1976; Брехман И.И., 1986; Яременко К.В., 1999; Арушанян Э.Б., 2008; Копнин А.А., 2010; Brekhman I.I., 1986; Panossian A., 2009, 2010, 2013; Asea A., 2013). Однако механизмы адаптогенного действия этих средств исследованы недостаточно, не имеют достаточной доказательной базы. Остается практически не изученным эффективность фитоадаптогенов при хроническом умеренном непредсказуемом стрессе, исключающим процесс адаптации к действию стрессоров. Выявление такого эффекта позволит обосновать применение растительных адаптогенов при хроническом воздействии стрессоров.

Целью настоящего исследования явилось определение спектра адаптогенной активности, фармакотерапевтической эффективности и механизмов адаптогенного действия «тетрафитона» при экспериментальных стресс-индуцированных состояниях.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие

задачи:

1. оценить спектр фармакологической активности «тетрафитона»;
2. определить фармакотерапевтическую эффективность «тетрафитона» на модели острого иммобилизационного и хронического умеренного эмоционального стресса;
3. оценить эффективность «тетрафитона» при азатиоприновой иммунодепрессии;
4. выявить базисные механизмы адаптогенного действия «тетрафитона».

Научная новизна. Впервые установлено, что комплексное растительное средство «тетрафитон» в экспериментально-терапевтических дозах 50 – 150 мг/кг обладает выраженной адаптогенной активностью, повышая неспецифическую сопротивляемость организма животных к экстремальным факторам различной этиологии: острому и хроническому стрессу, интенсивным физическим нагрузкам, гиперкапнической, гемической и тканевой гипоксии. Стресспротективная активность «тетрафитона» проявляется в ограничении развития «триады Селье», а также стресс-индуцируемой депрессии, что выражается в предотвращении развития ангедонии, снижении степени гипокортицизма и лимфатико-гипопластического диатеза. Курсовое введение «терафитона» способствуют повышению физической работоспособности животных, что обусловлено увеличением скорости ресинтеза АТФ, накоплением углеводных запасов в печени и мышцах, снижением выраженности метаболического ацидоза, улучшением доставки кислорода к работающим мышцам и активацией синтеза белка в скелетных мышцах и миокарде. «Тетрафитон» проявляет также психотропное влияние, зависящее от индивидуальных психологических характеристик животных: у животных с активной стратегией поведения средство стимулирует поисково-исследовательскую деятельность, оказывает антистрессорическое действие, а у «пассивных» животных – уменьшает проявления «неврастенических» реакций. Испытуемое фитосредство обладает иммунопротекторными свойствами, повышая активность иммунной сис-

темы животных при экспериментальной иммуносупрессии. Показано, что повышение неспецифической резистентности организма животных под его влиянием обусловлено ограничением гиперактивации стресс-реализующих систем (симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой) на фоне повышения активности эндогенной антиоксидантной системы, ограничивающей индукцию процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, что сопровождается повышением морфо-функциональной состоятельности мембранных структур клеток с оптимизацией энергетических процессов в условиях воздействия экстремальных факторов.

Практическая значимость. Материалы исследований оформлены в виде отчета по доклиническим исследованиям нового адаптогенного средства в виде биологически активной добавки (БАД) к пище. Кроме этого, результаты диссертационной работы используются в процессе преподавания курса фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» (акт внедрения от 01.03.2019).

Основные положения, выносимые на защиту:

- комплексное средство «тетрафитон» в экспериментально-терапевтической дозе оказывает выраженное адаптогенное действие, повышая неспецифическую резистентность организма к действию стрессорных факторов;
- «тетрафитон» обладает фармакотерапевтической эффективностью при остром иммобилизационном и хроническом умеренном эмоциональном стрессах, интенсивных физических нагрузках, гипоксии различного генеза и азатиоприновой иммунодепрессии;
- «тетрафитон» стимулирует ориентировочно-исследовательскую активность, проявляет анксиолитические и ноотропные свойства, а также уменьшает проявления депрессии на фоне хронического умеренного эмоционального стресса;

- базисным молекулярно-клеточным механизмом адаптогенного действия тетрафитона является ингибирование процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, что обусловлено наличием соединений фенольной природы и полисахаридов, обладающих прямым антирадикальным действием и повышающих мощность эндогенной антиоксидантной системы, а также оптимизацией энергетического баланса клеток.

Апробация материалов диссертации. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: III Международной научно-практической конференции «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов: опыт и перспективы использования в целях профилактики заболеваний, лечения и реабилитации больных» (Кызыл, 2017); International conference «Research-Innovation 2017» (Ulaan-baatar, 2017); 12 Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Пущино, 2017); Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых медицинских организаций Республики Бурятия, посвященной 80-летию М. П. Рябова «Совершенствование и развитие хирургической службы в Республике Бурятия» (Улан-Удэ, 2017); на ежегодных научных сессиях Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ, 2017, 2018).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, из которых 4 - в периодических изданиях, рекомендованных ВАК МО и науки РФ.

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

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 4 глав с изложением результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной ли-

тературы, включающего 246 источников: 136 отечественных и 110 иностранных авторов. Работа изложена на 130 страницах компьютерного текста и иллюстрирована 21 таблицей и 12 рисунками.

ГЛАВА 1. АДАПТАЦИЯ И СРЕДСТВА, ОБЛАДАЮЩИЕ АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

1.1. От эустресса к дистрессу и устойчивой патологии

В XX-XXI веке развитие человеческого общества ознаменовалось целым рядом научных, технических и технологических достижений, которые позволили человеку с помощью нанотехнологий заглянуть глубоко в микромир, освоить космические пространства и расширить сферу обитания человека на Земле за счет богатейших территорий Арктики. В связи с чем, структурно изменились и факторы, действующие на человека. Жизнь человека становится комфортнее и легче в физическом плане, но возрастает психоэмоциональная и информационная нагрузка, вместе с развитием технологий усиливаются антропогенные и техногенные факторы, приводящие к ухудшению экологической обстановки. Является признанным фактом то, что современный человек страдает от гиподинамии и гипокинезии, чрезмерных потоков информации, повышения интенсивности труда, отсутствия стабильности и уверенности в будущем, бытовых и финансовых проблем, которые в свою очередь приводят к проблемам в семье и межличностного общения. Нестабильная политическая и экономическая ситуация, межэтнические и межрелигиозные конфликты, техногенные катастрофы, терроризм вкупе с вышеперечисленными факторами пагубно влияют на организм человека, приводя к развитию различных психопатологических и психосоматических состояний (Судаков К.В., 2010).

Приспособление организма к изменению природных, производственных и бытовых условий называется адаптацией. Стратегической целью адаптации является восстановление гомеостаза в изменившихся условиях среды, то есть выживание. Активация стресс-реализующих систем в процессе адаптации является защитной реакцией, мобилизующей организм на выживание в изменившихся условиях окружающей среды. Этот сложный процесс начинается с мобилизации и перераспределения структурных и энергетических ресурсов в пользу органов и сис-

тем, ответственных за адаптацию. Важнейшую информационную функцию на данном этапе выполняют глюкокортикоиды и катехоламины. Гормоны и нейромедиаторы, взаимодействуя с соответствующими рецепторами, действуя через систему вторичных месенджеров, активируют протеинкиназы и потенцируют вход кальция в клетку, стимулируют процессы энергообразования в митохондриях, а также в системе гликолиза. Кроме того, протеинкиназы участвуют в активации генетического аппарата клетки, вызывают экспрессию генов регуляторных и структурных белков, ответственных за адаптацию, обеспечивая, тем самым, формирование структурной основы долговременной адаптации к данному стрессору (Меерсон Ф.З., 1988). С другой стороны, в условиях длительных и интенсивных воздействиях стрессоров, а также при врожденных или приобретенных дефектах стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем организма стресс-реакция трансформируется в патогенный фактор, вызывающий развитие болезней адаптации (Крыжановский Г.Н., 2002). Как известно, первым на данный факт обратил внимание Г. Селье, сформировавший широко распространенную как в экспериментальных исследованиях, так и в клинической практике, концепцию общего адаптационного синдрома (Selye H., 1960). Селье рассматривал адаптационный синдром как неспецифическую реакцию организма на действие разнообразных стрессоров, осуществляемую путем активации эндокринной оси: гипоталамус – adenогипофиз – кора надпочечников, характеризующуюся гипертрофией надпочечников, тимиколимфатической инволюцией, а также язвенными поражениями ЖКТ (Selye H., 1936).

В последующие годы, общетеоретические представления о стрессе значительно пополнились. На основе концепции У. Кэннона о роли симпатического отдела автономной нервной системы в формировании эмоциональных реакций, а также о роли эмоций в механизме адаптивных реакций животных и человека Л. Леви сформулировал представление об эмоциональном стрессе (Levi L., 1972). Новые аспекты формирования и патогенеза эмоционального стресса открыла тео-

рия функциональных систем П.К. Анохина. Согласно П.К. Анохину психоэмоциональный стресс возникает в «конфликтных ситуациях», когда субъект ограничен в возможности удовлетворения жизненно важных биологических и социальных потребностях (Анохин П.К., 1966). Ведущим фактором развития эмоционального стресса являются отрицательные эмоции – как источник мотивационного возбуждения, способствующего преодолению субъектом препятствий к удовлетворению потребности, при достижении желаемого результата возникает положительная эмоция, которая выступает в качестве вознаграждения за усилия по достижению цели. Однако при длительных затруднениях в достижении цели, наличии врожденных или приобретенных дефектов в системах, ответственных за мотивацию и вознаграждение, отрицательные эмоции, суммируясь, формируют очаг «застойного» реверберационного возбуждения в лимбико-ретикулярных структурах головного мозга, являющихся морфофункциональным субстратом эмоций (P. MacLean, 1989; Должиков А.А. и др., 2017), который оказывает непрерывное восходящее и нисходящее влияние на органы и системы, нарушая механизмы саморегуляции наиболее генетически или индивидуально ослабленных функциональных систем, вызывает «прорыв» слабого звена, вследствие чего формируется стойкое нарушение той или иной гомеостатической функции. При этом развивается дистресс. В условиях длительного нарушения механизмов саморегуляции гомеостатических систем высшего уровня, органы и ткани переходят на местные, более филогенетически древние, и поэтому более устойчивые механизмы саморегуляции, нередко носящие патологический характер. Это может привести к патологическому росту или гибели клеток и различным дистрофическим процессам. Выраженные метаболические нарушения приводят к формированию устойчивого патологического состояния – болезни адаптации (дизрегуляторную патологию по Г.Н. Крыжановскому, 2002). Например, при нарушении регуляции системного давления, возникает гипертензия, которая сначала носит транзиторный характер, при этом регуляция некоторое время осуществляется ме-

стными клеточными и метаболическими механизмами, при декомпенсации которых, формируется неизлечимая гипертоническая болезнь.

Таким образом, стресс - разветвленная системная реакция организма на экстремальные воздействия из внешней или внутренней среды, реализуемая первичным возбуждением гипоталамо-лимбико-ретикулярных структур головного мозга, активацией эффекторных влияний: симпатического отдела автономной нервной системы, симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой эндокринной оси, оказывающих генерализованное влияние на все органы и ткани, носящая приспособительный адаптивный характер. В качестве полезных приспособительных результатов выступают важнейшие гомеостатические константы, результаты поведенческой и психической деятельности, удовлетворяющие различные потребности.

Живой организм – совокупность множества гармонично сбалансированных и взаимодействующих функциональных систем метаболического, клеточного, нейровегетативного, нейро-гуморального, поведенческого и психического уровней организации, подчиняющихся определенным принципам: принципу иерархии, мультипараметрического и последовательного взаимодействия (Николаев С.М., 2012).

При действии стрессоров экстремальных по силе или длительности происходит дезинтеграция деятельности функциональных систем разного уровня, формирование застойных очагов возбуждения в эмоциогенных структурах головного мозга, что в свою очередь и порождает на основе постоянных нисходящих влияний развитие психосоматической патологии (Судаков К.В., 2010).

Важно подчеркнуть, что возникновение стрессовой ситуации всегда субъективно, так как оценка фактора зависит от неповторимого индивидуального опыта и психического статуса индивидуума. Именно субъективное отношение к фактору представляет собой важный психологический механизм и определяет индивидуальную значимость стрессора (Соколова Е.Б. и др., 1996).

В зависимости от активации стресс-системы стресс-реакция будет либо адекватной, либо недостаточной, либо чрезмерной. Например, по данным G.P.Chrousos, P.W.Gold (1992), длительная гиперреакция, или гипервозбуждение стресс-системы, может приводить, например, к меланхолической депрессии, главными симптомами которой являются тревога, подавление пищевых и сексуальных реакций, гипертензия, тахикардия, т.е. то, что обычно характерно для генерализованной стресс-реакции. При такой патологии отмечают хроническую активацию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси и симпатической нервной системы (Chrousos G.P., 1992). При гипореакции отмечают сезонные депрессии, например в темное время года. Эти состояния, наиболее часто встречающиеся у женщин, особенно в послеродовой период, характеризуются усталостью, синдромом фибромиалгий, ростом аппетита и увеличением массы тела, сонливостью. Для этих состояний характерно сниженное содержание КРГ в гипоталамусе.

Главная функция в формировании центрального механизма стресса принадлежит гипоталамусу. Нейроны «голубого пятна» проецируясь через кору больших полушарий и подкорковые структуры, гиппокамп, миндалину, таламус и гипоталамус, образуют нейроанатомическую структуру, которая реализует быструю модуляцию функции мозга и обеспечивает поведенческие и вегетативные компоненты стресс-реакции (Bremner J.D. et al, 1996). Таким образом, механизмы возникновения стрессорных патологий нужно «искать» прежде всего, в центральных структурах стресс-системы.

Основные закономерности развития стресс-ассоциированной патологии были исследованы и подробно описаны Ф.З. Меерсоном (1986) и М.Г. Пшенниковой (2001). Были выделены базисные адаптивные механизмы, срыв которых приводит к развитию заболевания. Повышенная секреция катехоламинов, открывает хемочувствительные Ca^{2+} -каналы, увеличивается внутриклеточная концентрация Na^+ и Ca^{2+} , активируются фосфолипазы, лабилизация мембран лизосом, выход протеаз и нуклеаз, реализуется «кальциевая триада» повреждения клеточных и субклет-

точных структур, которая приводит к нарушению возбудимости и гибели кардиомиоцитов, формирование очагов некроза в миокарде (Acar et al., 2005; Yusuf et al., 2012; Wagner et al., 2013). Одновременно происходит активация СРО мембран, нарушение текучести липидного бислоя и нарушение функциональной активности мембранных белков: насосов, каналов, ферментов, рецепторов, что приводит к нарушению структуры и функции клеток (Чеснокова Н.П., 2006; Меньщикова Е.Б., 2008). В результате мобилизации энергетических ресурсов, повреждения клеточных механизмов ресинтеза АТФ, происходит истощение энергетического потенциала клетки, что приводит к прекращению наиболее затратной в энергетическом плане деятельности. В результате перераспределения энергетических ресурсов в пользу функциональной системы, ответственной за адаптацию, происходит ишемическое повреждение «неработающих» органов (эрозии и язвы слизистой оболочки пищеварительного тракта). Избыток кортизола вызывает атрофию лимфоидной ткани и, как следствие иммунодепрессию. В «анаболическую» фазу стресс-реакции, активация синтеза белка под влиянием соматотропного гормона, стимулирует нерегулируемый клеточный рост, который на фоне кортизоловой иммунодепрессии составляет онкогенный эффект стресса (Пшенникова М.Г., 2001).

Наличие стресс-реализующей системы, диалектически предполагает стресс-лимитирующие механизмы. Система, которая по механизму саморегуляции и отрицательной обратной связи ограничивает интенсивность стресс-реакции и предупреждает развитие повреждений (Меерсон Ф.З., 1986). К стресс-лимитирующем системам относится несколько факторов.

Мелатонин – гормон, вырабатываемый эпифизом, координирует взаимодействие нервной, эндокринной и иммунной систем, оказывает тормозное действие на выработку КтРГ в гипоталамусе, АКТГ в адреналинотрофии. Тормозит стероидогенез в надпочечниках по принципу отрицательной обратной связи. Является самым мощным эндогенным антиоксидантом, защищает от повреждения кислород-

ными радикалами мембранные белки и генетический аппарат клетки, снижает вероятность гибели клетки и по механизму апоптоза, и по механизму некроза (Перцов С.С., 2011).

ГАМК-ergicическая система оказывает тормозное влияние в ЦНС: ограничивая секрецию КтРГ в гипоталамусе, АКТГ в гипофизе; в периферических нервных окончаниях тормозит высвобождение норадреналина и адреналина в симпатических синапсах (Чеснокова Н.П., 2006).

Опиоидергическая система включает эндорфины, энкефалины, динорфины, выделяясь из аденоhipофиза и мозгового слоя надпочечников, ограничивают чрезмерную секрецию катехоламинов, подавляют продукцию гипофизарных гормонов: АКТГ, СТГ, ТТГ, ФСГ и ЛГ (Слепухин В.Д., 1986; Лишманов Ю.Б., 1987), через лимбическую систему, снижает эмоциональные реакции возбуждения, страха (Кост Н.В., 2010). Кроме того, оказывают периферические эффекты: снижают уровень внутриклеточного Ca^{2+} в кардиомиоцитах, оказывают кардиопротективное действие (Vlaskovska et al., 1997; Samways D.S.K., 2006), модулируют тонус сосудов, в связи со способностью изменять соотношение NO и эндотелина -1 (Бебякова Н.А., 2010).

Оксид азота (NO) выделяется эндотелиальными клетками, одновременно с норадреналином из окончаний симпатических нервов, вызывает вазодилатацию, модулирует выброс кортиколиберина, усиливает синтез БТШ, предупреждающих денатурацию внутриклеточных белков (Малышев И.Ю., 1998; Bauersachs J., 2002).

Локальные тканевые стресс-лимитирующие системы представлены веществами, образующимися в тканях: простагландинами, аденоzinом и др. Простагландины уменьшают повреждение клеток, проявляя антиоксидантные свойства, вызывают местную вазодилатацию.

Антиоксидантная система – система эндогенной защиты клетки от процессов СРО (Меньщикова Е.Б., 2006). К ним относятся ферменты: супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазы, глутатионзависимые пероксидазы, способные связы-

вать активные формы кислорода (Максименко А.В., 2010; Лыско А.И., 2013). Кроме ферментов, антиоксидантами являются белки – церулоплазмин, миоглобин, трансферрин, Ig G, витамины K, A, C, E, глутатион, альбумины и др.

Важную роль в формировании резистентности клеточных структур играют белки теплового шока (БТШ) (Panossian A. et al., 2009), которые являются молекулярными шаперонами, способными ограничивать стрессорные повреждения за счет ренатурации белков, поврежденных в результате стресса, дезагрегации аномальных белковых молекул, участия в утилизации поврежденных белков и увеличения мощности антиоксидантных систем.

Стресс-реализующая и стресс-лимитирующие системы взаимодействуют друг с другом на центральном и периферическом уровнях, и только оптимальное их соотношение обеспечивает адекватную адаптивную реакцию организма. Если действие стрессора чрезмерно по силе или длительности, а также при наличии врожденных или приобретенных дефектах стресс-реализующих или чаще стресс-лимитирующих систем развивается дистресс, сопровождающийся ослаблением саморегуляторных механизмов и формирование дизрегуляции в одной или нескольких онтогенетически ослабленных физиологических систем организма. При неблагоприятном развитии ситуации дистресс может перейти в устойчивое патологическое состояние – болезнь адаптации (дизрегуляторную патологию) (Крыжановский Г.Н., 2002).

Существует тесная связь между стрессом и старением. Старение – итог всех стрессов, которым подвергался организм в течение жизни (Селье Г., 1992). В связи с этим, необходимость ограничения интенсивности стресс-реакции, повышения неспецифической резистентности организма к воздействию стрессоров различной природы при помощи адаптогенов с возрастом повышается.

1.2. Сведения о средствах растительного происхождения, обладающих адаптогенной активностью

Возможность достижения организмом состояния неспецифически повышенной сопротивляемости (СНПС) к широкому спектру повреждающих воздействий путем введения в организм фармакологических средств, адаптогенов, была впервые доказана профессором Н.В. Лазаревым в середине прошлого века (Лазарев Н.В., 1959). В своих публикациях Н.В. Лазарев писал: сходного состояния высокой резистентности организма по отношению к очень многим неблагоприятным факторам можно достигнуть двумя способами: 1) путем более или менее продолжительного приучения организма к действию вредных агентов, в том числе химических, 2) гораздо быстрее — путем введения в организм некоторых фармакологических средств, каковы, например, некоторые бензимидаэольные производные (в частности, дибазол), витамин В12, а также женьшень и др. Можно думать, что эти средства стимулируют те защитные механизмы, которые лишь постепенно активируются при более или менее длительных воздействиях неблагоприятных факторов среды. Иначе говоря, возникает вопрос о сходстве, а может быть и тождестве явлений, которые разыгрываются, с одной стороны, при тренировке, закалке, привыкании к неблагоприятным условиям существования (адаптации), а с другой — при воздействии на организм фармакологических средств, повышающих его устойчивость к повреждающим воздействиям. Сцепленность защитных реакций организма при этом позволяет предполагать существование в организме центральных механизмов, пускающих в ход и поддерживающих целый комплекс защитных реакций» (Лазарев Н.В., 1959). Для обозначения средств, вводящих организм в состояние неспецифически повышенной сопротивляемости Н.В. Лазарев впервые ввел термин «адаптогены». Теория Лазарева основывалась на теории стресса и общего адаптационного синдрома Г. Селье.

В современной медицине адаптогены - класс соединений, повышающих неспецифическую резистентность организма на воздействие экстремальных по силе

или длительности психических, физических, химических, биологических факторов, оказывающих нормализующий эффект за счет улучшения способности к адаптации. Адаптогены, также могут быть использованы для улучшения когнитивных и физических показателей для здоровых людей или для предотвращения или минимизации физических и когнитивных нарушений в гериатрии (Студенцов Е.П., 2013).

В 60-е годы XX века в СССР проводились широкомасштабные исследования, целью которых была разработка лекарств и методов, способных стимулировать собственные адаптационные механизмы организма, помогающие выжить в ситуациях интенсивного или продолжительного стресса, поддерживая на высоком уровне умственную и физическую работоспособность (Брехман И.И. 1964; Дардымов И.В., 1976). В процессе работы был собран материал более 1000 исследований, в основном фармакологических (клинических и экспериментальных).

В настоящее время исследование адаптогенов ведется по 4 направлениям: 1. фитохимия: выделение и выяснение структуры активных компонентов растительных адаптогенов; 2. биохимия и молекулярная биология: исследует механизмы стресс-протекторного действия адаптогенов на молекулярном и клеточном уровне; 3. экспериментальная и клиническая фармакология: изучает эффективность и безопасность адаптогенов при стресс-индуцированных расстройствах человека и животных; 4. фармация: разработка новых способов получения и стандартизации лекарственных форм адаптогенов с целью медицинского использования.

Как фармакотерапевтическая группа адаптогены были определены как препараты, повышающие внимание и выносливость при переутомлении, и уменьшающие стресс-индуцированные расстройства нейро-эндокринной и иммунной систем. В связи с отсутствием четких критериев принадлежности к классу адаптогенов, в последние годы наметилась тенденция отнесения к адаптогенам различных лекарственных средств, которые не соответствовали всем признакам адаптогенов. Часто к адаптогенам относят лекарственные средства, обладающие имму-

ностимулирующим, анаболическим, ноотропным и тонизирующим действием. Тем не менее, нет никаких сомнений, что многие растительные адаптогены способны модулировать отдельные фазы общего адаптационного синдрома Селье за счет снижения интенсивности стрессовых реакций в фазе тревоги и замедления или устранение «фазы истощения» (Wagner et al. 2013; Mendes F., 2011; Oliveira D.R., 2016). Ганс Селье первым определил стресс как состояние «угроза для гомеостаза», гомеостаз - это сложное динамическое равновесие, которое постоянно подвергается воздействию внутренних/внешних неблагоприятных сил или стрессоров (Panossian A. et al. 1999). Интерес к биологически активным добавкам и растительным продуктам, обладающими адаптогенными свойствами растет во всем мире (Panossian A. et al. 1999, 2010; Wong CPF et al., 2011; Perry N., 2017). Большой интерес к адаптогенам возник в спортивной медицине, например, для повышения выносливости бегунов на длинные дистанции во время соревнований или к более быстрому восстановлению после соревнований (Сейфулла Р.Д., 2003). Действительно, растительные адаптогены могут также использоваться здоровыми людьми для улучшения когнитивных и физических показателей или в качестве герiatricких агентов для предотвращения или сведения к минимуму физических и когнитивных нарушений, возникающих в результате старения (Mendes F., 2011). Растительные адаптогены стимулируют нервную систему с помощью механизмов, которые полностью отличаются от традиционных стимуляторов, являясь непосредственными участниками стресс-реализующих механизмов, и модулирующие стресс-реакцию (Panossian A., 2005; Oliveira D.R., 2016). Модуляция оси гипоталамус-гипофиз-надпочечник представляется одним из основных механизмов действия адаптогенов, также важную роль в механизме действия адаптогенов играет иммуномодулирующее действие. Другими важными механизмами являются антиоксидантная активность (их роль в профилактике нейродегенеративных заболеваний хорошо известна) и модуляция холинергической и других нейротрансмиттерных систем. Обычная парадигма «одно лекарство

для одной болезни» не подходит для адаптогенов, так как они имеют множество фармакологических эффектов. Одними из основных критериев принадлежности к классу адаптогенов является их способность увеличивать устойчивость организма к действию стрессоров различной природы, оказывать гомеостатическое действие в изменяющихся условиях окружающей среды и важное значение имеет их низкая токсичность, отсутствие нежелательных побочных реакций в широком диапазоне доз (Oliveira D.R., 2016).

В отличие от традиционных психостимуляторов (симпатомиметиков, амфетамина, кокаина и др.) адаптогены не вызывают зависимости, не снижают умственные и физические способности, не вызывают психотических расстройств при длительном употреблении и отказе от приема. Их стимулирующий эффект наиболее выражен на фоне утомления и стресса (Perry N.L., 2017).

Наиболее хорошо изучены и имеют достаточную доказательную базу адаптогены *Rhodiola rosea*, *Schisandra chinensis* и *Eleutherococcus senticosus*. Опубликованы данные о безопасности данных средств в острых и подострых токсикологических исследованиях. Получены доказательства повышения резистентности к высокотоксичным химическим веществам (хлорофос, циклофосфан, стрихнин, наркотики, барбитураты, бензин, ацетон, эфир и др.), физическим, биологическим факторам на фоне введения вышеперечисленных адаптогенов. Например, курсовое введение экстракта *Rhodiola rosea* понижало LD₅₀ 40% этанола с 24,1 мл/кг до 55,2 мл/кг, или салидрозид укорачивал со 100 до 19 %, продолжительность бензоналового сна у животных (Panossian A., 2010].

Механизмы действия природных адаптогенов реализуются на системном, клеточном и молекулярном уровнях организма. На системном уровне фармакологическая активность растительных адаптогенов связана с ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем: симпатоадреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и стимуляции стресс-лимитирующих систем. На клеточном уровне эффекты адаптогенов снижают интенсивность ответа

на активацию центрального звена стресс-реакции, тем самым предупреждают развитие повреждений, в том числе психосоматической патологии. Существенная роль в антистрессорном эффекте адаптогенов на клеточном уровне принадлежит антиоксидантным свойствам, обусловливающим мембраностабилизирующее действие в отношении клеточных и субклеточных мембран и нормализации активности мембранных ферментов (Seyoum A., 2006; Wilson L.D. et al., 2007). Молекулярный уровень стресс-протекторного действия адаптогенов связан с ключевыми медиаторами стресс-реакции, универсальными для всех клеток: активация синтеза белков теплового шока Hsp70, Hsp 72, Hsp16, которые являются молекулярными шаперонами, способными ограничивать стрессорные повреждения за счет ренатурации белков, поврежденных в результате стресса, дезагрегации аномальных белковых молекул, участия в утилизации поврежденных белков, обеспечивающие адаптацию клетки к повторным воздействиям (Panissian A., 2009; Asea A., 2013). Появились данные об участии NO, стресс-активированных протеинкиназ JNK и фактора DAF-16 в реализации стресс-протекторного эффекта адаптогенов (Panossian A., 2010). Стресс-индуцированная генерация агрессивных кислородсодержащих радикалов, повреждает 3D структуру внутриклеточных белков, нарушает их функцию, ингибирует митохондриальное дыхание, приводит к истощению энергетических ресурсов, развитию утомления и повреждению клеточных структур. Адаптогены, такие как ADAPT-232 (комбинация экстрактов Rhodiola rosea, Schisandra chinensis и Eleutherococcus senticosus) на фоне стресса снижают содержание оксида азота, кортизола и активность JNK, и активируют экспрессию БТШ70 и транслокацию FOX-O в ядре, тем самым, предотвращают повреждение митохондриальных ферментных систем, стимулируют восстановление поврежденных белков, восстанавливают энергетический потенциал клетки, ингибируют JNK и, следовательно, запрограммированную гибель клеток (Panossian A., 2009). Кроме того, повреждение 3D структуры глюкокортикоидных рецепторов нарушает механизм обратной связи, что приводит к повышению секреции

кортизола. Кортизол обладает иммунодепрессивным, противовоспалительным действием. Он также необходим для защиты организма от сверхактивации стресс-реализующих механизмов. Однако, длительное повышение уровня кортизола приводит к депрессии, хронической усталости и нарушении когнитивных функций, таких как снижение внимания и способности к обучению, а в дальнейшем к развитию нейродегенеративной патологии (Oliveira D.R., 2016). Введение ADAPT-232 нормализует функцию глюкокортикоидных рецепторов, обладает антидепрессивным действием, путем активации транслокации FOX-O в ядро увеличивает стресс-устойчивость клеток и повышает продолжительность жизни (Panossian A., 2010). Обзор современных источников демонстрирует растущий интерес к стресспротективным средствам природного происхождения во всем мире. Основные исследования сфокусированы на нейропротекторном действии адаптогенов для профилактики нейродегенеративных заболеваний и профилактики стрессиндуцированной иммунодепрессии. Обнаружено, что салидрозид, активный компонент, выделенный из родиолы розовой, является мягким психостимулятором, защищает нейроны от глутамат-индуцированного повреждения, предотвращает глутамат-индуцированный апоптоз нейронов гиппокампа крыс, блокирует H₂O₂-индуцируемый апоптоз нейронов, предохраняет нейроны от кальциевого повреждения, защищает нейроны от амилоид-β-пептид-индуцированной цитотоксичности, снижает скорость накопления агрессивных кислород-содержащих радикалов и малонового диальдегида, предотвращает развитие оксидативного стресса при утомлении. Шизандрин В, выделенный из *Schisandra chinensis*, обладает нейропротективной активностью, обусловленной активацией синтеза БТШ70, активацией системы восстановленного глутатиона, антиоксидантной активностью, стимуляцией синтеза АТФ, нормализует когнитивные функции, и повышает продолжительность жизни животных (Panossian A., 2010). Курсовое введение *Withania somnifera* повышает толерантность животных в условиях интенсивной физической нагрузки, плавания в холодной воде, обладает анксиолитическим действием.

В экспериментах по изучению противоопухолевой активности, выявлено, что для классических адаптогенов характерно наличие иммуномодулирующей, антиметастатической активности и экранирования токсических эффектов цитостатической терапии (Oliveira D.R., 2016).

Доказано, что большинство адаптогенов растительного происхождения обладают широким спектром фармакологической активности, характеризуются плавным нарастанием эффекта, низкой токсичностью в широком диапазоне доз и практически полным отсутствием нежелательных побочных реакций при длительном применении (Perry, 2016).

Перечень растительных средств, обладающих адаптогенными свойствами постоянно расширяется, применение некоторых имеет серьезные исторические предпосылки, многие из этих растений эмпирически применялись в качестве общеукрепляющих, тонизирующих, «продлевающих молодость» средств. Современные научные исследования разделяют растение на химические составляющие, раскрывают механизмы их эффективности на клеточном, молекулярном уровне, что мы попытались осветить в нашем обзоре. Но, чем глубже мы проникает в интимные молекулярные детали, и чем более фокусируемся на конкретных мишених, тем более методы лечения больных становятся не адекватными. Обнаружение тонких механизмов влияния лекарственного, оздоровительного средства на молекулярно-генетическом уровне не означает реального понимания действия препарата на целый организм больного (Свердлов Е.Д., 2010). В этом аспекте большой интерес представляет опыт лечения и профилактики заболеваний многокомпонентными лекарствами в восточной традиции врачевания болезней (Николаев С.М., 2012).

1.3. Сведения о «тетрафитоне» и его компонентах

В организме выделяют пять основных регулирующих функций систем: ментальная, нейро-вегетативная, нейро-эндокринная, иммунная и метаболическая.

Известно, что эти системы, с одной стороны, сосуществуют в единстве, поддерживая гомеостаз, а с другой стороны – находятся в иерархических отношениях друг с другом. Чем позже в процессе фило- и онтогенеза сформировалась система, тем более высокое место в иерархии она занимает. Основание пирамиды образует самая устойчивая, но наименее совершенная система (Николаев С.М., 2012). Организм человека – открытая (активно взаимодействующая с окружающей средой) саморегулирующаяся система, с прямыми и обратными связями, иногда достаточно восстановить баланс в одной из систем, далее сам организм, без дополнительных вмешательств, восстанавливает баланс на всех регуляторных уровнях.

Традиционно для управления сложными, иерархически соподчиненными и одновременно взаимосвязанными процессами в организме человека применялись многокомпонентные лекарственные средства («Вайдурья-онбо», «Кунпандудзи»). Лечебное действие сочетаний лекарственных средств в них направлено прежде всего на регуляцию «тепла и холода», нормализацию основных физиологических процессов (гармонизация регуляторных влияний (рлунг, мкхрис и бадкан) и функциональной активности отдельных органов (Базарон Э.Г., 1984).

Многовековой опыт тибетской медицинской системы свидетельствует о том, что именно многокомпонентные средства можно рассматривать как многоуровневые регулирующие фармакологические системы, модулирующие естественные, филогенетически сложившиеся гомеостатические механизмы (Николаев С.М., 2012). Каждому элементу в подобных рецептурных прописях предопределена соответствующая роль и функциональное предназначение при их применении (Росин Е.А., 1984; «Чжуд-ши»).

Проблема повышения сопротивляемости организма в экстремальных климатических условиях, повышения физической и умственной работоспособности в тибетской медицине традиционно решалась с помощью укрепляющих средств, или эликсиров, называемых «жудлэны», рекомендуемых при астенических состояниях, для ослабленных больных, а также лицам преклонного возраста «для

укрепления сил тела», «дающих долголетие и здоровье», которые предназначались для лечения хронических «истощающих» и «старческих» заболеваний («Кунпан-дудзи»). Для разработки средства, обладающего адаптогенной активностью, в качестве прототипа была взята рецептура многокомпонентного сбора «зомо-шинг-дуг-тан» («Кунпан-дудзи»).

Девясил высокий - *Inula helenium* L. Семейство астровые (Asteraceae)

Распространение. Встречается небольшими группами в европейской части России, на Урале, в Западной Сибири, на Кавказе. Предпочитает светлые опушки, склоны гор и холмов, поймы рек. Разводится как лекарственно-декоративное растение в садах и огородах.

Химический состав. В корневищах и корнях девясила содержатся эфирные масла. Сесквитерпеновые лактоны (4.31-5.24%): алантолактон 1.55-2.02%, изоалантолактон (2,08-2.73), азулен, камфора, алантовая и уксусная кислота; сексвитерпеноиды 2,47-5,24%; тритерпеноиды: фриделин, даммарадиенол ; стериоиды: стигмастерин, β -ситостерин. В корнях обнаружен инулин (19,80-43,58%), инуленин, псевдоинулин. Липиды, жирные кислоты: линолевая, пальмитиновая, линоленовая; витамин Е., рутин – 1,76 %, кверцетин. Фенольные соединения в пересчете на галловую кислоту – 3,65%; фенолокислоты: кофейная, неохлорогеновая, феруловая, дикофеинная, 5-кофеоилхинная кислоты. Инулин, в пересчете на фруктозу – 25.28-42.00 %, псевдоинулин, пектины. В надземной части также содержаться сексвитерпеноиды, каротиноиды, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты их производные (Лубсандоржиева П.-Н.Б., 2016; Huo Y. et al., 2012).

Широко применяется в народной медицине, в качестве отхаркивающего и антисептического средства при острых и хронических заболеваниях дыхательных путей и легких, рекомендуется в составе комплексной терапии гриппа. Выраженные противовоспалительные, антибактериальные, антигельминтные, желчегонные и мочегонные свойства обусловливают включение девясила в комплексную тера-

нию острых и хронических гастритов, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, заболеваний печени и желчного пузыря, ревматизме, аскариозе, геморрое (Николаев С.М., 2012). Настойку применяют для улучшения аппетита и как тонизирующее после продолжительной болезни. В виде отвара применяется в качестве адаптогена, повышающего устойчивость ЦНС к хронической ишемии (Галушкина, 1987), в составе сборов обладает гепатопротекторным действием, стимулирует клеточную регенерацию. В народной медицине он нередко применяется при неврозах, эпилепсии и как тонизирующее средство. Из подземных частей этого растения получен препарат аллантон, который усиливает кровоснабжение слизистой оболочки желудка, ускоряет процессы регенерации, стимулирует выработку буферных веществ.

Выявлено значительное количество механизмов метаболических эффектов соединений девясила высокого: алантолактон увеличивал транслокацию GLUT4 в клетках скелетной мышцы крысы, вызывал снижение глюкозы в крови и улучшение индекса массы тела, показателей липидного обмена и толерантности к глюкозе. Кроме того, вызывал активацию митохондриальных ферментов в скелетной мышце (Arha, D., 2018). Алантолактон снижает пальмитат-индуцированную толерантность к глюкозе, накопление жира и воспаление в adipоцитах [Kim M., 2018], улучшает проницаемость скелетных мышц для глюкозы путем ингибирования IL-6-индуцированной сигнализации STAT3-SOCS3 с последующим ингибированием экспрессии гена TLR4, вызывающей воспаление мышечной ткани (Kim M., 2017). Кверцетин, лютеолин и рутин продемонстрировали значительное ингибирование альфа-глюкозидазы *in vitro*, показали высокую антиокислительную и антидиабетическую активность при сахарном диабете (Orhan N., 2017).

Имбирь лекарственный — *Zingiber officinale* Roscoe., Семейство Имбирные (*Zingiberaceae*). Многолетнее травянистое растение. Корневища толстые, ползучие, узловатые, бледно-желтого цвета, с красноватым оттенком.

Растет в Индии, Японии, Африке. Одна из самых культивируемых специй. Культивируют в Индии, Китае, на Ямайке, Нигерии и Индонезии.

Главными компонентами химического состава корневища имбиря являются эфирные масла (1-4%) и фенольные соединения. Главной составной частью масла является сесквитерпены (50 % от общего количества) – α- и β-зингиберены, куркумены, β-бисаболен, β-сесквифелландрен, α- и β –фарнезены, зингеберол и др. В меньшем количестве присутствуют монотерпены, придающие характерный запах: гераниол (9%), цинеол, липалоол (1%), борнеол (Щепочкина О.Ю. и др., 2015).

Другие соединения, найденные в имбре: кверцетин (до 1,29 мг/г сухого веса), кемферол, катехин и эпикатехин. Общее содержание фенольных соединений согласно источнику (Ginger.URL: <http://examine.com/supplements/Ginger/>) от 157 мг/100 г сырого веса корневища. Основными из фенольных нелетучих веществ является 6-8-10-гингеролы и зингерон. Количество аскорбиновой кислоты в имбре составляет 45.68 ± 0.06 мг/100 г имбиря, что соизмеримо с ее содержанием в апельсинах и лимонах (50 мг/100 г) и в 2 раза превышает ее содержание в яблоках (20 мг/100 г) (Вальчихина О.Ю., 2015).

Широкий спектр терапевтической активности имбиря включает: противовоспалительное, обезболивающее и потогонное действие, стимулирование и улучшение пищеварения, противорвотное действие, улучшение когнитивных функций, гипохолестеринемический, гипогликемический, противокашлевой, отхаркивающий, гипотензивный и антиоксидантный эффекты. Согласно данным научных публикаций, фармакологическое действие имбиря главным образом обеспечивается эфирным маслом, основными компонентами которого являются сесквитерпены (α - и β -зингиберены, куркумены, β -сесквифеландрен), и веществами, придающими корневищу острый вкус, – гингеролами и шогаолами (Щепочкина О.Ю. и др., 2015).

Имбирь применяют как противовоспалительное средство при суставно-мышечном болевом синдроме. Противовоспалительное действие опосредовано

избирательным ингибирированием ферментов ЦОГ-2 и 5-липооксигеназы, и уменьшением образования провоспалительных простагландинов, простациклинов, тромбоксана и лейкотриенов. При этом, имбирь в отличие от неселективных ингибиторов ЦОГ не способствует язвообразованию в желудке. Кроме того, имбирь подавляет синтез интерлейкина 1 β и ФНО α , препятствуя деструкции суставного хряща (Вальчихина О.Ю., 2015). Благодаря эфирному маслу, фенольным соединениям корневища имбиря обладают выраженной антирадикальной активностью, сопоставимую по величине с ионолом, а по длительности превосходящую его (Н. Тоhma, 2017; Мишарина Т.А., 2013), нейропротекторным и противоязвенным действием. Причем, противоязвенный эффект обусловлен, во-первых, антимикробным действием на *Helicobacter pylori*, нормализацией секреции муцина и ингибирующим действием на Н+К+АТФ-азу (S.M. Nanjundaiah, 2011), а также противовоспалительной, противоопухолевой активностью (Kim, 2005). Установлено, что противорвотный эффект имбиря практически не уступает эффекту метоклопрамида (S.M. Nanjundaiah, 2011). В комбинации с гinkго билоба демонстрирует анксиолитическое действие, обусловленное антагонизмом с серотонином. С блокадой рецепторов к серотонину связан гипогликемический эффект имбиря, механизм действия гингеролов и их метаболитов, и анксиолитическое действие. В исследованиях на здоровых женщинах, экстракт имбиря (7,3% 6-гингерола, 1,34% 6-шогаола) стимулировал память, скорость и точность решения тестов. Обнаружено нейропротекторное действие имбиря в дозе 100, 200 и 300 мг/кг веса на модели с окклюзией правой мозговой артерии у лабораторных крыс (Вальчихина О.Ю., 2015). Гингеролы являются агонистами ванилоидных рецепторов, аналогично капсаицину, обуславливая обезболивающий эффект имбиря. Имбирь обладает андрогенным и эстрогенным действием: на крысах-самцах стимулирует секрецию тестостерона, в опыте *in vitro* является агонистом рецепторов к эстрогену.

Экстракт имбиря и 6-гингерол предотвращает повреждение печени и почек при действии $HgCl_2$, Fe^{2+} - и оксидативного стресса, (Jochi, 2017; Gholampour,

2018), обладает значительным противовоспалительным действием, более выраженным, по сравнению с диклофенаком, путем нормализации провоспалительных цитокинов PGE2, TNF α , IL6, MCP1, эффект экстракта по антиоксидантной активности в отношении NO радикала сопоставим с индометацином, противовоспалительное действие подтверждено гистопатологическими на модели карагенинового отека (Essat, 2018).

Кардамон настоящий - *Elettaria cardamomum* Maton. Семейство имбирные (Zingiberaceae). Многолетнее травянистое вечнозеленое тропическое растение с крупным корневищем, развивающим несколько стеблей высотой 2-3 м. В качестве сырья используются семена, являющиеся дорогостоящим и широко экспортirующимся товаром.

Распространение: родина кардамона — Индия и Цейлон. Произрастает в сырых горных лесах Южной Индии и Вьетнама. Культивируется.

Химический состав. Семена кардамона содержат большое количество эфирных масел (3—8 %): 1,8-цинеол, терpineол, терпинилацетат, лимонен, мирцен. Алкалоиды, флавоноиды, сапонины, стеролы, танины. Выявлено содержание в *E. cardamomum* полисахаридов в виде разветвленных альфа-глюкан (Оленников, 2013). Полисахариды с такими структурами имеют широкий спектр биологической активности (гипогликемическое, иммуностимулирующее, противовопухоловое, противокашлевое и др.).

В современной медицине кардамон и эфирное масло из него используют как ароматическое, противомикробное, тонизирующее средство. В индийской медицине применяется как гастропротекторное средство, регулирует секреторную функцию желудочно-кишечного тракта и применяется при желудочных и кишечных коликах, плохой переносимости пищи, рвоте (Jamal, 2006). Эфирное масло снимает депрессию, устраняет меланхолию, вялость, апатию, страхи, головную боль. Значительный объем выполненных работ касается эффективности кардамона при различных проявлениях метаболического синдрома: в клинических иссле-

дованиях с высоким уровнем доказательности на пациентах с диагностированной жировой дистрофией печени и метаболическим синдромом применение кордамона приводило к достоверному повышению сывороточного Sirt1 и снижению провоспалительных маркеров СРБ, TNF-alpha, IL-6, ALT, а также степени жировой дистрофии печени (Daneshi-Maskooni, Milad., 2018). Результаты рандомизированного, плацебо-контролируемого, двойного слепого клинического исследования на 80 пациентах с преддиабетом продемонстрировали высокую эффективность кардамона: снижаются провоспалительные маркеры: С-реактивный белок, IL-6, фактор некроза опухоли; показатели общей антиоксидантной активности: малоновый диальдегид, повышается активность супероксиддисмутазы эритроцитов и активность глутатионредуктазы (Kazemi, Shiva., 2017). Обнаружен антигиперхолестеринемический эффект кардамона на крысах линии Wistar, находящихся на диете с высоким содержанием холестерина в течение 8 недель, достоверно снижается уровень триглицеридов, холестерина в сердечной мышце, снижается индекс атерогенности, активность супероксиддисмутазы, концентрация аскорбиновой кислоты в сыворотке крови достоверно повышались (Nagashree, Shamarao, 2017). Введение кардамона крысам, находящимся на диете с высоким содержанием углеводов и жиров предотвращает развитие атерогенной дислипидемии, проявления оксидативный стресс и повреждение печени, нормализует толерантность к глюкозе (Rahman, Md Mizanur, 2017). Кардамон имеет сопоставимую эффективность с пиоглитазоном в предотвращении дексаметазон-индуцированного гепатомегалии, дислипидемии и гипергликемии (Bhat, GMN, 2015). Перинатальное введение кардамона беременным мышам показало положительное влияние на когнитивные функции потомства, память, обучаемость, уровень дофамина, серотонина и восстановленного глутатиона повышался, содержание МДА в гомогенате головного мозга снижался (Abu-Taweel, Gasem Mohammad, 2018). Получены данные о противосудорожном действии кардамона на модели химически- и электрически индуцируемых судорог (Masoumi-Ardakani,

Yaser, 2016). Влияние кардамона на активность холинэстеразы обуславливает эффективность применения кардамона для профилактики старческого слабоумия (Prabha, 2015). Биологически активные компоненты кардамона продемонстрировали высокую антибактериальную активность, в связи с чем, представляют интерес для разработки новых противомикробных препаратов (Abdullah, 2017). Противоопухолевая активность кардамона изучалась на модели химически индуцированного гепатоцеллюлярного рака, бензпирен-индуцированном раке желудка у крыс у крыс. Обнаружено гепатопротекторное, антиоксидантное, противовоспалительное и противоопухолевое действие (Elguindy, Nihal M., 2016; Saeed Asma, 2014). Кардамон обладает кардиопротективным действием на модели изопротеренол-индуцированного инфаркта миокарда у крыс, вследствие прямого антиоксидантного действия и повышения активности эндогенной антиоксидантной системы, подтвержденными гистопатологическими и ультраструктурными данными (Goyal, Sameer N., 2015).

Карагана иглистая - *Caragana spinosa* (L.) Wall . ex Hornem

В тибетской медицине широко применяется в качестве противовоспалительного средства, рекомендуется для лечения острых и хронических заболеваний внутренних органов и систем, нарушений обмена веществ, обладают общеукрепляющим действием, способностью предупреждать инфекционные заболевания «мкхрис», «продлять жизнь» (Шел Пхренг, 2017).

Химический состав. Из караган флоры Забайкалья выделены флавоноидные агликоны и гликозиды различной степени гликозилирования, принадлежащие к производным флавона и флавонола, изофлавоноиды, кумарины, феноло- и аминокислоты и уреиды.

По данным ОБАВ СО РАН содержание флавоноидов в побегах *Caragana spinosa* составляет 1,4-2,2% в пересчете на рутин. По данным разных авторов количественное содержание суммы флавоноидов в побегах составляет 0,68 % в пересчете на кверцетин, дубильных веществ 7,1 %, экдистероидов 0,7%, β-

ситостеринов 0,21 %, стероидных сапонинов 0,12%, полисахаридов 9,0%, пектина 14%. В составе эфирных масел идентифицировано 16 компонентов. Доминирующими являются сесквитерпеновые соединения, в т.ч. кариофиллен оксид (24.4%), *транс*- α -бергамотен (15.8%), β -кариофиллен (13.6%) и (*Z*)-*транс*- α -бергамотол (10.8%).

Лекарственные и оздоровительные формы, полученные из караганы грибистой обладают антисептическим, гемостатическим, тонизирующим, желчегонным действием, стимулирует репаративные процессы (Николаев С.М., 2012). Применяются при простудных заболеваниях, заболеваниях желудочно-кишечного тракта. Наружно в виде компрессов и спринцеваний при кожных заболеваниях и заболеваниях женской половой системы.

По данным научных исследований, настойка караганы колючей обладает выраженным гепатопротекторным действием на модели CCl₄ –индуцированного гепатита, вазопротективным действием (Барнаулов О.Д., 2018).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика испытуемого средства

Объектом исследования является экстракт сухой, полученный из корневищ *Inula helenium*L., *Zingiber officinale* Roscoe, плодов *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. и побегов *Caragana spinosa* (L.) Wall ex Hornem путем трехкратной экстракции фитомикса с предварительной ультразвуковой обработкой смеси, концентрирования, вакуумной сушки и дополнительного введения в готовый сухой экстракт эфирного масла, с условным названием «тетрафитон». Доминирующими группами БАВ являются фенольные соединения и летучие терпеноиды. Общее содержание фенольных соединений в фитомиксе составляет 1.51%, а флавоноидов – 0.56%. Стандартизацию сухого экстракта осуществляли с применением метода ВЭЖХ-УФ по содержанию рутина, нарциссина, [6]- и [8]-шogaолов.

Перед экспериментами «тетрафитон» растворяли в воде, вводили животным опытной группы внутривенно в дозах 50,100 и 150 мг/кг в объеме 5 мл/кг массы животных за 1 ч до кормления однократно или многократно в зависимости от условий эксперимента. Контрольные животные получали эксциобъемное количество воды. Референтные животные получали препарат сравнения - деалкоголизированный экстракт жидкий левзеи сафлоровидной в дозе 5,0 мл/кг.

Исследование химического состава экстракта сухого «тетрафитона» с применением УФ-спектроскопии, ВЭТСХ, ВЭЖХ и ГХ/МС выявило присутствие олигофруктанов, полисахаридов, флавоноидов, фенилпропаноидов, фенилалканолов,mono- и сесквитерпенов. Доминирующими группами БАВ являются фенольные соединения и летучие терпеноиды. Общее содержание фенольных соединений в фитомиксе составляет 1.51%, а флавоноидов – 0.56%. В составе фенольных соединений установлено наличие представителей групп фенилпропаноидов, флавоноидов и арилгептаноидов. Основными фенилпропаноидами являются 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (90.06 мкг/мл), кофейная кислота (86.32 мкг/мл) и 1,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота (77.44 мкг/мл). В составе флавоноидов преобладают

маркерные компоненты 3-*O*-рутиноиды кверцетина (рутин; 186.16 мкг/мл) и изо-рамнетина (нарциссин; 157.96 мкг/мл). Стандартизацию экстракта сухого осуществляют с применением метода ВЭЖХ-УФ по содержанию рутина, нарциссина, [6]- и [8]-шогаолов. Соединения детектировали при следующих длинах волн: 280 нм (шогаолы), 330 нм (фенилпропаноиды), 350 нм (флавоноиды), (Olennikov, Tankhaeva, 2012; Olennikov, Partilkhaev, 2012).

2.2. Лабораторные животные и условия опыта

Эксперименты выполнены на белых крысах-самцах линии Wistar обоего пола массой 160 – 180 г., 180-220 г. и мышах линии СВА, F₁ (СВАхС57Bl/6) обоего пола массой 20–22 г. Организация, порядок проведения исследований, содержание животных в условиях сертифицированного вивария ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Рандомизация животных по группам осуществлялась с учетом пола, возраста, массы.

Исследования проводились в соответствии с Правилами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях», ETS № 123 от 18.03.1986 (Страсбург, 1986). Дизайн исследования и протокол экспериментальной апробации согласован с этической комиссией Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (протокол № 1 от 15.01.2016). Исследования выполняли в соответствии с рекомендациями «Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств» (2005).

2.3. Модели стресса и методы исследования

Исследование стресспротекторной активности включало в себя определение влияния испытуемого средства на устойчивость организма в условиях острого и хронического воздействия стрессоров различной природы: иммобилизации, интенсивных физических нагрузок, острой гипоксии.

Острый иммобилизационный стресс моделировали путем фиксации животных в положении на спине в течение 18 ч. (Юматов, Скоцеляс, 1979). Иммобилизацию крыс на спине с фиксацией за конечности осуществляли на прямоугольных прощадках в течение 18 ч., в условиях стандартного освещения, температуре 18-20 °С. Для оценки стресспротекторной активности определяли выраженность «триады Селье»: гипертрофию надпочечников, состояние иммунокомпетентных органов (тимуса и селезенки) и появление деструкций в слизистой оболочке желудка с подсчетом «индекса Паулса». Индекс Паулса рассчитывали по формуле: ИП= АхВ/100, где А – среднее количество эрозий и язв в группе; В – процент животных с повреждениями в группе. В сыворотке крови измеряли активность мембраннысвязанных ферментов АЛТ и АСТ, содержание глюкозы, общего холестерина, триглицеридов (ТГ), ЛПНП, ЛПВП на анализаторе SAPPHIRE 400.

Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (Темирбулатов, Селезнев, 1981). Для определения активности антиоксидантной системы измеряли каталазную (Королюк и соавт., 1988) и супероксиддисмутазную активность крови (Чевари и соавт., 1985) и содержание восстановленного глутатиона (ВГ) (Anderson, 1989) в сыворотке крови.

Хронический эмоциональный стресс воспроизводили по 4-недельному протоколу (Papp and Mogyl, 1996), с обязательной ежедневной сменой стрессора и времени проведения: 1 день: 16-часовая депривация пищи и воды; 2 день: 5-минутное подвешивание за шейную складку; 3 день: 1 – часовая иммобилизация в 50 мл конический тубус; 4 день: помещение в залитую водой клетку на 1 час; 5 день: наклон «домашней» клетки под углом 45° (на ночь), 6 день: помещение на сухую ограниченную площадку в бассейне с холодной (8-10 °) водой на 1 час; 7 день: без стресса. В соответствии с исходными параметрами поведения крысы были разделены на поведенчески активных и пассивных, характеризующихся крайними паттернами поведения. В течение всего эксперимента раз в неделю (в

среду утром) проводили сахарозный тест, для оценки уровня ангедонии, являющейся критерием развития депрессии. Начиная с 3 недели эксперимента животным опытной группы внутрижелудочно вводили «тетрафитон» в дозе 100 мг/кг в объеме 5 мл/кг массы животных в течение 14 дней (однократно за 1 ч до кормления). В конце эксперимента животных тестировали: оценивали поведенческую активность в «открытом поле», «приподнятом крестообразном лабиринте», вынужденного плавания Порсолта, модели подвешивания за хвост. После окончания эксперимента животных декапитировали под легким эфирным наркозом, определяли относительную массу тимуса, надпочечников, селезенки (мг на 100 г массы крысы). В сыворотке крови измеряли концентрацию кортизола, фактора некроза опухоли, альфа, γ – интерферона методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе «STAT FAX – 2100» (США) набором реагентов ИФА - БЕСТ. Содержание глюкозы, общего холестерина, триглицеридов (ТГ), липопротеидов низкой (ЛПНП) и высокой (ЛПВП) плотности измеряли на анализаторе «SAPPHIRE 400» (Япония). Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови.

Интенсивную физическую нагрузку моделировали общепринятым методом вынужденного плавания с грузом, массой 7% от массы тела (Методические рекомендации..., 1999). Эксперимент проводили в утреннее время в стеклянной емкости размером 70x70x100 см., наполненной кипяченой водой до уровня, не позволяющего зацепиться за край и оттолкнуться хвостом от дна бассейна. Для оценки актопротекторной активности определяли время плавания животных. Критерием полного утомления животного являлось погружение животного под воду на 10 секунд и более. После этого, крыс сакрифицировали под легким эфирным наркозом и определяли биохимические показатели. В гомогенате скелетной мышцы, миокарда определяли содержание АТФ (Алейникова, Рубцова, 1988), молочной (МК) и пировиноградной (ПВК) кислот (Колб, Камышников, 1976), в гомогенате

печени определяли содержание гликогена по методу S. Seifter (1950), в сыворотке крови – концентрацию глюкозы, холестерина, триглицеридов, ЛПНП, ЛПВП, общего белка, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинфосфокиназы (КФК) на анализаторе «SAPPHIRE 400» (Япония). Оценивали интенсивность процессов ПОЛ с использованием вышеописанных методов.

Иммуносупрессию вызывали путем внутрижелудочного введения азатиоприна в дозе 50 мг/кг в течение 5 дней (Лазарева, Алексин, 1985). Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по A.J.Cunningham (1965); состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике (Хайтов и соавт., 2012); макрофагального звена иммунного ответа - в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов мышей в отношении частиц коллоидной туши (Хайтов и соавт., 2012).

Тканевую гипоксию вызывали однократным внутрибрюшинным введением натрия нитропруссида в дозе 20 мг/кг; модель гемической гипоксии воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения крысам раствора нитрата натрия в дозе 70 мг/кг (Лукьянова, 1989). Острую прогрессирующую нормобарическую гипоксическую гипоксию с гиперkapнией создавали для крыс возрастом 3–4 месяца массой 100 – 140 г в гермокамере объемом 1000 мл (по М. В. Кораблеву и П. И. Лукиенко в модификации Ю. А. Белозерцева и Н. Д. Авсеенко (1995).

Оценку поведенческой и исследовательской деятельности животных под влиянием испытуемого средства проводили с использованием тестов «открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «светлая/темная камера» в условиях функционального покоя и эмоционального стресса. В teste «открытое поле» регистрировали число пересеченных периферических и центральный квадратов (горизонтальная активность), число подъемов на задние лапки (вертикальная активность), число дефекаций, груминга, норковый рефлекс в течение 3 минут. В

тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» определяли количество посещений и время пребывания на «открытых» и «закрытых» рукавах лабиринта, количество свешиваний, число вертикальных стоек, число дефекаций и груминга. В тесте «светлая/темная камера» подсчитывали число переходов между светлым и темным отсеком, а также длительность пребывания в них. В соответствии с результатами предварительного тестирования в «открытом поле» животные были разделены на 2 группы, с крайними паттернами поведения. Первая группа животных «активные» - характеризовалась высокой двигательной активностью, высокой исследовательской активностью (свыше 5 заглядываний в норы) и низким показателем вегетативного баланса (0-1 болюс за 5 мин). Вторая группа животных, «пассивные» с низкой двигательной активностью, низкой исследовательской активностью (от 0 до 2-х заглядываний в норы), и более высоким показателем дефекации (2-4 болюса за 5 мин).

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

Анксиолитическое действие и влияние на ГАМК-ergicическую системы исследовали с использованием метода конфликтной ситуации по Vogel (Воронина, Середенина, 2012).

Влияние «тетрафитона» на интенсивность обменных процессов оценивали на основании прироста массы тела неполовозрелых крыс, относительной массы бедренной мышцы, миокарда и печени. В гомогенате скелетной мышцы определяли содержание общего белка по методу Бредфорда (Bradford, 1976), РНК и ДНК методом Блобеля и Поттера в модификации М.Г. Трудолюбовой (Трудолюбова и соавт., 1977); в гомогенате печени определяли содержание гликогена по методу S.Seifter (1950). В сыворотке крови определяли содержание соматотропного гормона (СТГ) методом ИФА на анализаторе «STAT FAX – 2100» (США). Содержа-

ние глюкозы, триацилглицеридов (ТГ), холестерина, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови измеряли на анализаторе «SAPPHIRE 400» (Япония).

Для оценки особенностей механизма адаптогенного действия испытуемого средства определяли мембраностабилизирующую активность по степени перекисного и осмотического гемолиза эритроцитов (Ковалев и соавт., 1986). Для определения роли различных компонентов фитосредства в реализации стресспротекторной активности исследовали антиоксидантную активность фитосредства и его компонентов с применением методов *in vitro*: антирадикальную активность по отношению к супероксидрадикалам определяли по методу Chen A.S. et al. (2003); в отношении связывания ABTS^{•+} катион радикала определяли по методу (Leenheer A. С соавт. 1979) с некоторыми изменениями; по отношению к 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил-радикалу (DPPH) определяли бессубстратным методом по методу (Seyoum A. и соавт. 2006; к NO – методом Govindarajan R. et al.(2003); Fe²⁺-хелатирующую активность исследуемых средств определяли с использованием модифицированного о-фенантролинового метода (Olennikov, Tankhaeva, 2012); антиоксидантную активность оценивали по степени влияния исследуемого фитосредства на динамику перекисной деградации β-каротина (СВА-метод) в системе олеиновая кислота-ДМСО-Н₂О₂ (Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., 2007).

Исследование влияния тетрафитона на активность ферментов в модельной системе *in vitro*: глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, каталазы и пируваткиназы проводили общепринятым методом (Бродова и др., 2004).

Полученные данные обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента (Сергиенко, Бондарева, 2001). Различия считали достоверными при Р≤0,05.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА «ТЕТРАФИТОН»

3.1. Изучение острой токсичности «тетрафитона»

Исследование острой токсичности экстракта сухого «Тетрафитон» показало, что внутрижелудочное введение водного раствора тетрафитона в дозах 1500, 3000, 5000 и 8000 мг/кг, в максимально возможном объеме (1мл/100г) не сопровождалось гибелью лабораторных животных. Полученные данные позволяют отнести испытуемое средство к группе практически безвредных веществ по классификации К.Сидорова (1973) и H.Hodges, R.Stern (1975).

3.2. Влияние «тетрафитона» на функциональное состояние центральной нервной системы

Поведение – результат интегративной деятельности всех структур центральной нервной системы. Нарушение поведения является наиболее информативным показателем специфической дезинтеграции нейрохимических механизмов высших подкорковых структур при стрессе. Для оценки влияния испытуемого средства на высшие отделы ЦНС использовали поведенческие тесты: «открытое поле», «крестообразный приподнятый лабиринт», моделирование конфликтной ситуации по Vogel, «условный рефлекс пассивного избегания». Животные предварительно были рандомизированы по результатам теста «открытое поле» по скорости и силе психических процессов, из эксперимента исключались животные, демонстрирующие крайние паттерны поведения.

3.2.1 Влияние на поведенческую активность крыс в teste «открытое поле»

Эксперименты проводились на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180-220 г. Водный раствор «тетрафитона» вводили per os в течение 7 дней в дозах 50, 100 и 150 мг/кг в объеме 5мл/кг. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду. Референтная группа животных получала препарат сравнения – деалкоголизированный экстракт левзеи сафлоровидной. Тестировали

утром, после последнего введения препарата, в течение 3 минут визуально оценивали следующие показатели: латентный период первого движения (LP), горизонтальную двигательную активность - количество пересеченных периферических и центральных квадратов, вертикальную активность – число подъемов на задние лапки, исследовательскую активность (заглядывание в норки), груминг (число касаний морды лапами), число дефекаций (Воронина и соавт., 2012). Полученные данные представлены в таблице 3.2.1.1.

Таблица 3.2.1.1. Влияние «тетрафитона» на особенности поведения животных в teste «открытое поле»

Показатели	Группы животных				
	Контроль- ная (H ₂ O) n=10	Опытная 1 (тетрафи- тон 50 мг/кг) n=10	Опытная 2 (тетрафи- тон 100 мг/кг) n=10	Опытная 3 (тетрафи- тон 150 мг/кг) n=10	Референт- ная (левзея) n=10
Латентный период первого движения (сек)	4,5±1,25	4,0±0,62	1,7±0,51*	2,1±0,32*	3,0±0,41
Общая двигательная активность	12,2±0,81	14,2±2,15	21,1±2,91*	20,0±0,35*	18,5±0,32*
Горизон- тальная ак- тивность	Перифериче- ские квадра- ты	9,2±0,78	9,7±0,84	13,4±2,83	12,9±0,21*
	Центральные квадраты	2,2±0,16	2,2±0,12	2,6±0,69	2,7±0,02
Количество животных, посетивших центральные квадраты, %	70	80	100	100	70
Вертикальная активность	0,7±0,22	2,2±0,05*	3,9±0,55*	4,2±0,34*	2,1±0,45*
Норковый рефлекс	0	0,5±0,02*	1,2±0,1*	1,3±0,01*	2,0±0,15*
Дефекации	2,7±0,34	2,6±0,21	2,2±0,52	2,2±0,02	2,3±0,15
Груминг	1,0±0,01	1,2±0,03	1,3±0,57	1,2±0,01	1,0±0,1

Примечание: *- здесь и далее значения, достоверно отличающиеся от данных животных контрольной группы при $p \leq 0,05$

Результаты тестирования показали, что «тетрафитон», при курсовом введении в дозах 50, 100 и 150 мг/кг обладает дозозависимым психостимулирующим действием, повышает общую двигательную активность, снижает свойственное

крысам чувство страха открытого пространства, активирует ориентировочно-исследовательское поведение животных. Под влиянием испытуемого фитосредства в дозе 100 мг/кг снижается латентный период первого движения на 63 %, общая двигательная активность повышается на 73%, в частности, количество пересеченных периферических квадратов и «стоек» повышается на 40 % и в 5 раз ($p\leq 0,05$) соответственно, норкового рефлекса – в 1,2 раза, количество животных, посетивших центральные квадраты на 30% ($p\leq 0,05$) по сравнению с животными контрольной группы. Достоверных различий в степени вегетативного дисбаланса (количество дефекаций) и особенности стресс-протективной замещенной активности (груминга) во всех опытных группах животных обнаружено не было. Следует отметить, что значимых отличий в эффективности испытуемого средства в дозах 100 и 150 мг/кг обнаружено не было.

3.2.2 Влияние на поведенческую активность животных в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Эксперименты проводились на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180-220 г. Тетрафитон вводили per os в дозах 50, 100 и 150 мг/кг в объеме 5 мл/кг в течение 7 дней. Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) проводили в утреннее время, в условиях стандартного освещения. В начале теста животное помещали в центр, головой в открытый рукав, затем в течение 5 минут регистрировали латентный период первого движения, время пребывания в светлом рукаве и темном, количество вертикальных стоек, актов груминга и дефекаций (Воронина и соавт., 2012).

Результаты теста в ПКЛ показали (рисунок 3.2.2.1.), что профилактическое курсовое введение тетрафитона в дозах 50, 100 и 150 мг/кг вызывает достоверные изменения поведенческих показателей опытных животных. Снизился уровень тревожности животных, что проявилось в увеличении времени пребывания в освещенных рукавах лабиринта на 12,42 и 40 % соответственно ($p\leq 0,05$), уменьшении латентного периода начала движения на 5, 20 и 20 %, а также увеличении

числа вертикальных стоек на 10, 25 и 26 % ($p \leq 0,05$) соответственно.

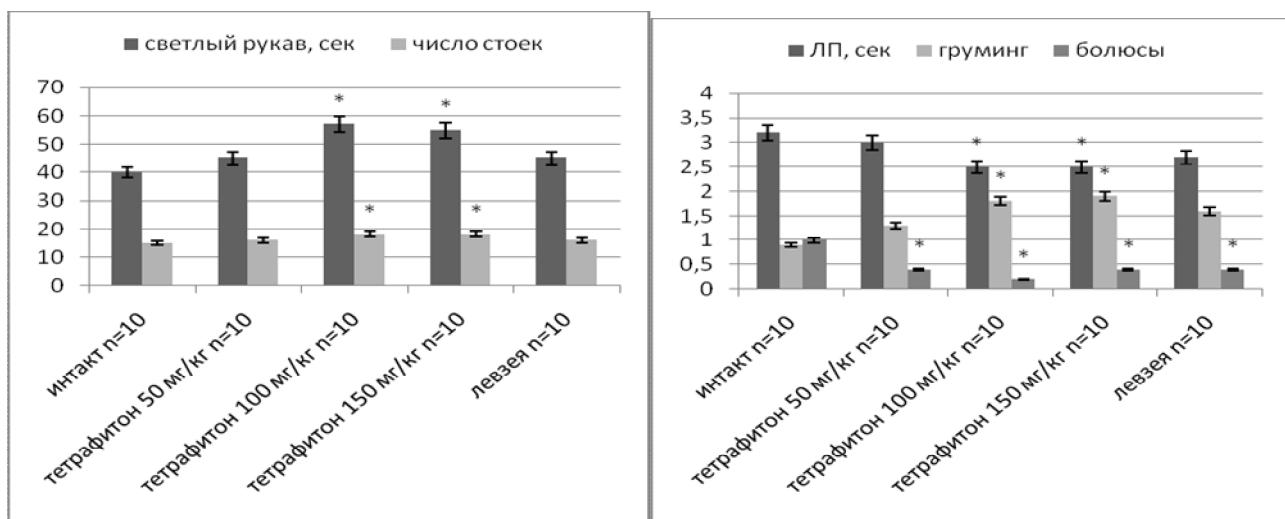


Рисунок 3.2.2.1. Влияние «тетрафитона» на поведенческие реакции интактных крыс в тесте ПКЛ

Снизилось количество дефекаций во всех опытных группах, что указывает на снижение эмоциональности животных и нормализацию вегетативного баланса. Следует отметить, что испытуемый препарат в дозах 100 и 150 мг/кг превосходит по эффективности препарат сравнения.

3.2.3. Влияние на выработку условной реакции пассивного избегания

Влияние «тетрафитона» на процессы обучения животных исследовали на модели выработки и сохранности условной реакции пассивного избегания (УР-ПИ) (Островская и соавт., 2012). Эксперименты проводились на крысах Wistar обоего пола, массой 180-200 г. Опытные группы животных превентивно получали водный раствор тетрафитона в дозе 50, 100 и 150 мг/кг, в объеме 5 мл/кг, в течение 7 суток, reg os. Контрольная группа животных получала дистиллированную воду в том же объеме. Для тестирования крысу помещали в освещенную камеру спиной к темному отсеку, при вступлении в темный отсек, подавали электрический ток (0,8 мА) до момента перехода в светлый отсек, но не более 5 с. Через 1 час, 24 часа, 3 суток после обучения животных тестировали для проверки сохра-

нения выработанного навыка. В опыте фиксировали: ЛП входа в темный отсек, количество животных с выработанным и сохранившимся рефлексом. Результаты представлены на рисунке 3.2.3.1.

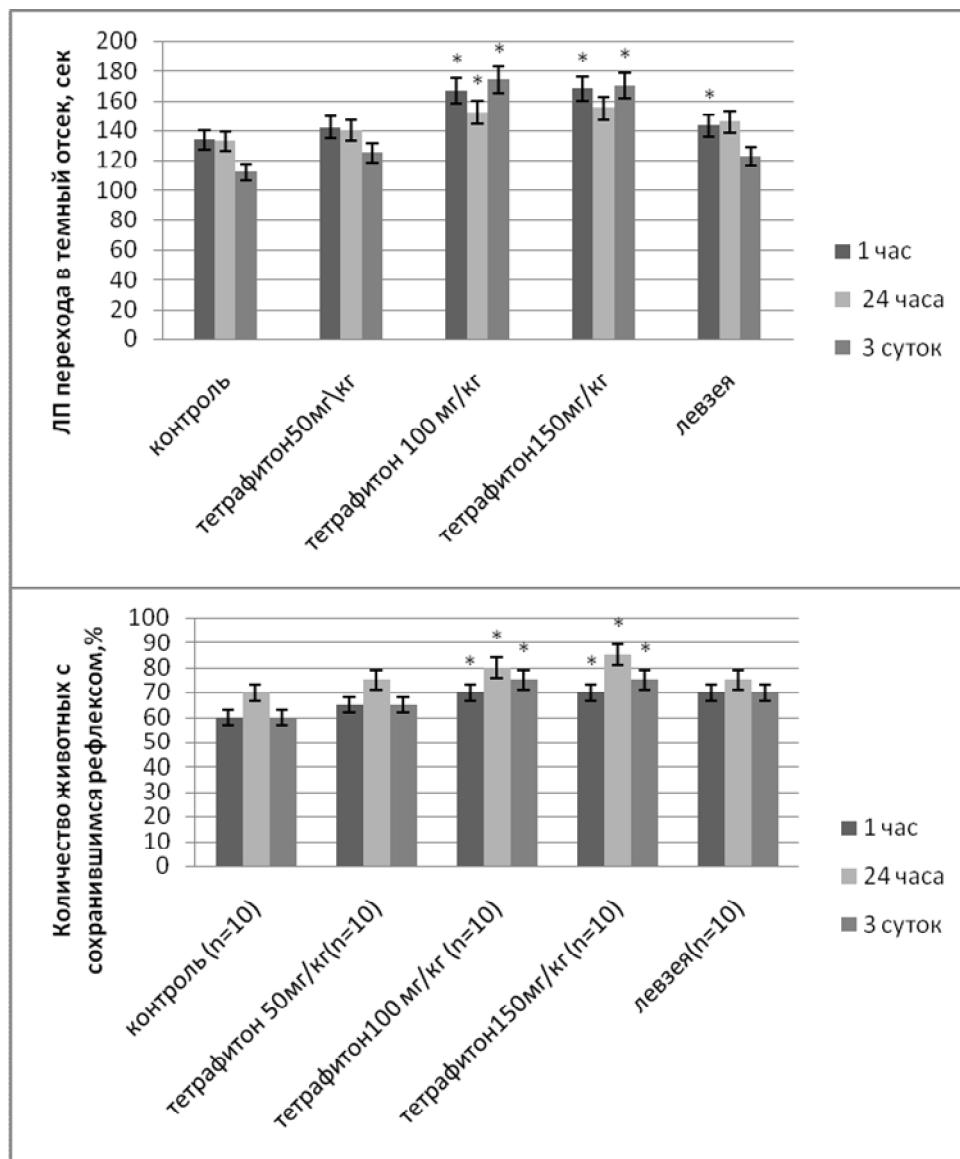


Рисунок 3.2.3.1. Влияние «тетрафитона» на процессы обучения и памяти в teste УРПИ

Установлено, что испытуемое средство стимулирует образование и сохранение условно-рефлекторных связей у животных, на что указывает увеличение ЛП перехода в темный отсек животных опытных групп, в среднем на 7, 30 и 31 % выше показателей контрольной группы через 1 час после обучения, на 5, 10 и 11 % через 24 часа, и на 18, 54 и 52 % через 3 суток после обучения соответственно

($p \leq 0,05$). Кроме того, процент животных, с сохранившимся рефлексом в опытных группах 1-3 был на 10, 25 и 25% выше по сравнению с контрольными животными во все сроки исследования, причем наиболее высокую эффективность тетрафитон демонстрирует в дозе 100 мг/кг, на 3 сутки исследования, что превосходит по эффективности препарат сравнения.

3.2.4. Влияние на поведенческие реакции на модели конфликтной ситуации по Vogel

Эксперименты проводились на крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180-220 г. Опытная группа животных превентивно получала водный раствор тетрафитона в дозах 50, 100 и 150 мг/кг в течение 7 дней. Контрольная группа животных получала дистиллированную воду по аналогичной схеме. Конфликтную ситуацию по Vogel создавали, сталкивая питьевую и оборонительную мотивации: каждая попытка взятия воды наказывалась электроболевым раздражением. В результате, для удовлетворения жажды, крыса должна преодолеть страх перед наказанием. Число наказуемых взятий воды за 10 мин нахождения в камере являлось мерой анксиогенного состояния (Воронина и соавт., 2012).

Результаты исследования показали, что «тетрафитон» при курсовом введении в дозах 50, 100 и 150 мг/кг обладает выраженным анксиолитическим эффектом, снижает проявления тревожности и страха, о чем свидетельствует увеличение числа наказуемых взятий воды на 44%, в 2,1 и в 2 раза по сравнению с контролем соответственно ($p \leq 0,05$) (рисунок 3.2.4.1). Следует отметить, что анксиолитическое действие тетрафитона в большей степени проявляется в дозе 100 мг/кг и превосходит по эффективности препарат сравнения.

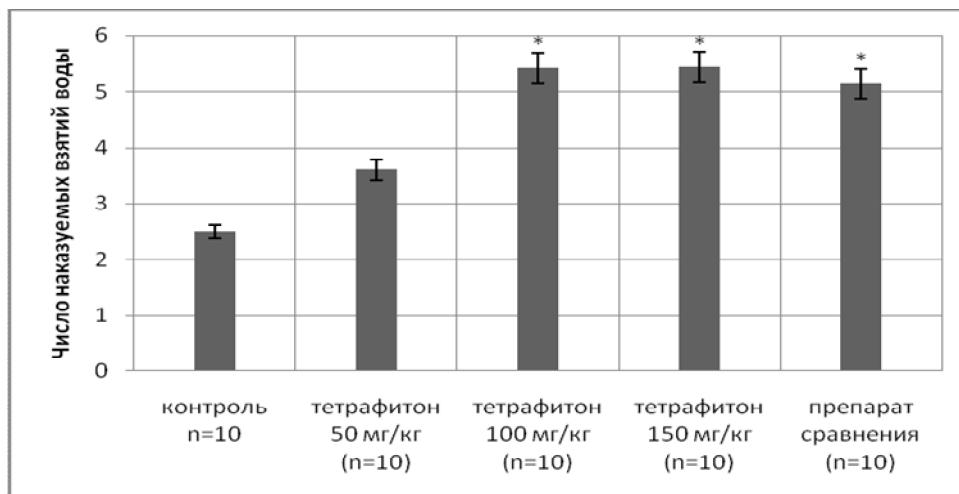


Рисунок 3.2.4.1. Влияние «тетрафитона» на поведение животных в модели конфликтной ситуации по Vogel у интактных крыс.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что профилактическое курсовое введение «тетрафитона» оказывает психостимулирующее действие, повышает общую двигательную активность, активирует ориентировочно-исследовательское поведение животных в незнакомых условиях; проявляет анксиолитические свойства: снижает латентный период первого движения, подавляет у животных чувство страха открытого пространства; обладает ноотропным действием: положительно влияет на их способность к обучению, что выражается в ускорении формирования и длительном сохранении выработанных условных рефлексов. Причем, наибольшую эффективность испытуемое средство демонстрирует в дозе 100 мг/кг.

3.3. Исследование антигипоксической активности «тетрафитона»

3.3.1. Влияние на устойчивость к острой гемической гипоксии

Эксперименты проведены на 32 крысах линии Wistar массой 180-220 г обоего пола. Введение животным водного раствора нитрита натрия в дозе 70 мг/кг ($ЛД_{50}$), внутрибрюшинно вызывает быстрое снижение кислородной емкости крови, вследствие образования метгемоглобина (Лукьянова Л.Д., 1989). Животные опытной группы 1 и 2 получали водный раствор тетрафитона в дозе 50 и 100 мг/кг соответственно, 1 раз в сутки, до кормления в течение 7 дней. Контрольная груп-

па животных получала дистиллированную воду, референтная группа – деалкоголизированный экстракт левзеи сафлоровидной в дозе 5,0 мл/кг в аналогичном режиме. Критерием устойчивости животных к гипоксии является продолжительность жизни животных. Полученные данные приведены на рисунке 3.3.1.1.

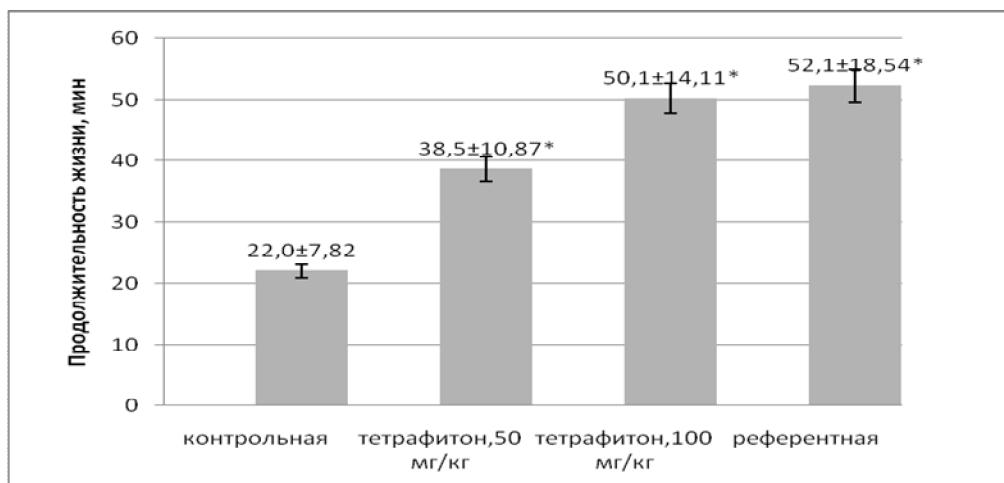


Рисунок 3.3.1.1. Влияние «тетрафитона» на продолжительность жизни животных при гемической гипоксии

Полученные результаты свидетельствуют, что курсовое введение тетрафитона в дозе 50 и 100 мг/кг увеличивает продолжительность жизни животных при острой гемической гипоксии на 72 % и в 2,2 раза соответственно, по сравнению с показателями контрольных животных. Причем, наиболее выраженный антигипоксический эффект оказывает введение «тетрафитона» в дозе 100 мг/кг.

3.3.2. Влияние на устойчивость к острой тканевой гипоксии

Эксперименты проведены на 32 крысах линии Wistar массой 170-220 г обоего пола. Модель тканевой гипоксии воспроизводили путем однократного введения нитропруссида натрия в дозе 20 мг/кг внутрибрюшно (ЛД₁₀₀) (Лукьянова, 1989). Животных randomизировали на 4 группы: 1 – контрольная, животные получали дистиллированную воду per os, ежедневно, в течение 7 суток, перед кормлением, в конечном объеме 1мл/100 г; 2 и 3 – группа опытная 1 и 2, получали водный раствор тетрафитона per os в дозе 50 мг/кг и 100 мг/кг соответственно; 4 – референтная, животные получали деалкоголизированный экстракт левзеи сафло-

ровидной в дозе 5 мл/кг по аналогичной схеме

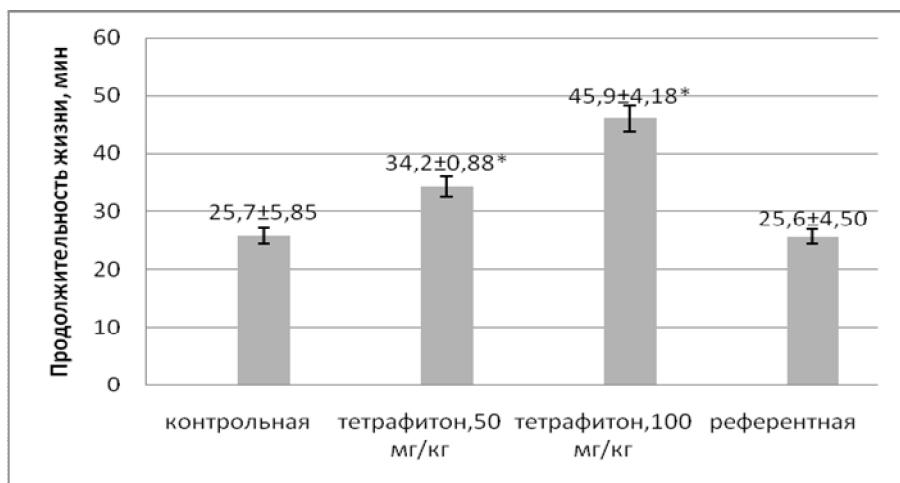


Рисунок 3.3.2.1. Влияние «тетрафитона» на устойчивость к острой гистотоксической гипоксии, вызванной введением нитропруссида натрия.

Для оценки устойчивости животных в условиях тканевой гипоксии фиксировали продолжительность жизни животных с момента введения нитропруссида натрия. Полученные данные приведены на рисунке 3.3.2.1.

Полученные результаты указывают, что курсовое введение комплексного растительного средства «тетрафитон» оказывает выраженный дозозависимый антигипоксический эффект: увеличивает продолжительность жизни на 36 и 83 % соответственно в дозе 50 и 100 мг/кг по сравнению с показателями контрольной группы животных. Следует отметить, что в данной серии экспериментов эффективность «тетрафитона» значительно превосходит препарат сравнения.

3.3.3. Влияние на устойчивость к острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией

Эксперименты проведены на 32 крысах линии Wistar массой 180-220 г обоего пола. В качестве модели гипоксии использовалась гипоксия гермообъема (Воронина и соавт., 2012а). Животных одинаковой массы поместили по одному в герметически закрывающиеся емкости объемом 1 л. При дыхании животных в герметичных камерах при неизменном барометрическом давлении, постепенно

снижается парциальное давление кислорода (PO_2), с одновременным повышением парциального давления углекислого газа (PCO_2), возникает артериальная гипоксемия и гиперкапния. Животным опытных групп вводили водный раствор «тетрафитона» в дозах 50 и 100 мг/кг, 1 раз в сутки перед кормлением, курсом продолжительностью 7 дней. Контрольная группа животных получала дистиллированную воду, референтная группа препарат сравнивания по аналогичной схеме. Полученные результаты приведены на рисунке 3.3.3.1.

В данной серии экспериментов установлено, что курсовое введение «тетрафитона» значительно повышает выживаемость животных в условиях гемической, тканевой и гипоксической гипоксии с гиперкапнией. Наиболее выраженный дозозависимый антигипоксический эффект обнаружен на модели гемической гипоксии (72% и в 2,2 раза, чуть менее эффективно средство в условиях тканевой гипоксии (36, 83%), менее всего на модели гипоксической гипоксии (30 и 36 %), при введении в дозах 50 и 100 мг/кг соответственно.

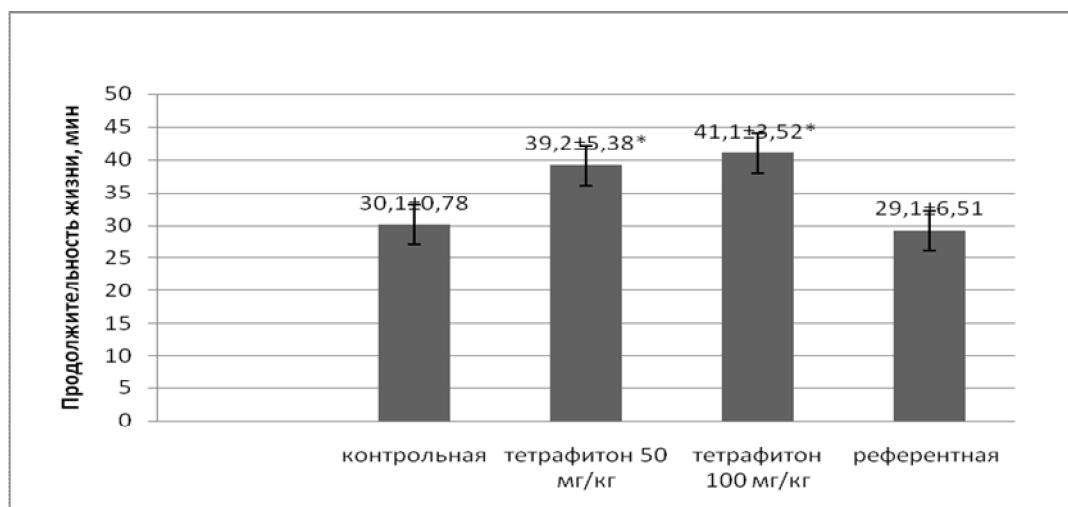


Рисунок 3.3.3.1. Влияние «тетрафитона» на устойчивость к нормобарической гипоксии с гиперкапнией.

Таким образом, увеличение продолжительности жизни животных, получавших «тетрафитон» по сравнению с контролем, является подтверждением антигипоксического действия испытуемого средства. Причем, эффективность «тетрафитона» во всех сериях экспериментов превосходила препарат сравнения.

3.4. Исследование актопротекторной активности «тетрафитона» в тесте вынужденного плавания

Эксперименты проведены на 40 крысах-самцах линии Wistar массой 180–220 г. Крысам опытной группы профилактически вводили экстракт сухой «тетрафитон», разведенный в воде, внутрижелудочно, в дозе 100 мг/кг в объеме 5 мл/кг массы животных в течение 7 дней (однократно за 1 ч до кормления), последнее введение осуществляли за 1 час до эксперимента. Животным референтной группы вводили препарат сравнения – деалкоголизированный экстракт левзеи сафлоровидной в объеме 5 мл/кг по аналогичной схеме. Животные контрольной группы получали эквиобъемное количество дистиллированной воды. Общую физическую выносливость определяли по продолжительности плавания животных в бассейне с грузом, составляющим 7 % от массы тела до первого погружения животного под воду в течение 10 секунд. Для оценки актопротекторной активности определяли длительность плавания животных. После этого крыс сакрифицировали под легким эфирным наркозом и определяли биохимические показатели: в гомогенате скелетной мышцы, миокарда определяли содержание АТФ (Алейникова, Рубцова, 1988), молочной (МК) и пировиноградной (ПВК) кислот (Колб, Камышников, 1976) в гомогенате печени определяли содержание гликогена по методу S. Seifter (1950), в сыворотке крови – концентрацию глюкозы, холестерина, триглицеридов, ЛПНП, ЛПВП, общего белка, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинфосфокиназы (КФК) на анализаторе «SAPPHIRE 400» (Япония). Оценивали интенсивность процессов ПОЛ с использованием вышеописанных методов.

При оценке актопротекторной активности выявлено, что крысы, получавшие превентивно «тетрафитон» в дозе 100 мг/кг в течение 7 дней при попадании в воду начинали активно двигаться, практически без периодов зависания, длительность плавания у них в среднем оказалась на 73% больше, чем у контрольных крыс ($p \leq 0,05$), что свидетельствует о повышении физической выносливости в условиях интенсивной физической нагрузки (ИФН) (таблица 3.4.1).

Данные, приведенные в таблице свидетельствуют, что повышение физической выносливости обусловлено достоверным увеличением содержания макроэргических соединений (АТФ) в скелетных мышцах и миокарде на 13% и в 2,5 раза соответственно у крыс, получавших «тетрафитон», по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе.

Таблица 3.4.1. Влияние «тетрафитона» на общую физическую выносливость, метаболические показатели белых крыс на фоне интенсивной физической нагрузки (ИФН) в teste вынужденного плавания

	Группы животных			
	интактная n=10	Контрольная (ИФН+ вода) n=10	Опытная (ИФН +тетрафитон) n=10	Референтная (ИФН + левзея) n=10
Плавание, мин	-	3,6±0,42	6,3±0,55*	6,3±0,71*
Скелетная мышца				
АТФ, мкмоль/г	3,9±0,13	3,4±0,31	3,8±0,31	3,8±0,35
МК, мкмоль/г	6,2±0,52	9,2±0,72	6,1±0,69*	7,2±0,71*
ПВК, мкмоль/г	0,6±0,02	0,8±0,08	0,6±0,05*	0,4±0,09*
Миокард				
АТФ в миокарде, мкмоль/г	0,7±0,06	0,4±0,05	1,1±0,21*	0,6±0,07*
Печень				
Гликоген, мг/г	5329±589	5042±512	6196±614*	5486±517*
Сыворотка крови				
Глюкоза, ммоль/л	8,5±0,84	11,1±1,12	13,2±1,44*	9,7±0,99
Общий белок, г/л	81,9±9,54	81,3±8,32	81,9±8,21	81,9±8,25
Холестерин, ммоль/л	2,2±0,21	1,9±0,18	2,1±0,24	1,9±0,19
Триглицериды, ммоль/л	1,5±0,15	1,4±0,15	1,3±0,14	1,3±0,14
ЛПВП, ммоль/л	1,4±0,13	1,2±0,13	1,3±0,14	1,2±0,15
ЛПНП	0,3±0,03	0,3±0,03	0,3±0,03	0,3±0,03
ЛДГ, ед/л	595±56,2	1165±125	595±58,2*	675±68,1*
КФК, ед/л	2174±224	3301±395	1902±192*	1959±212*

Кроме того, в опытной группе у животных наблюдалось увеличение содержания основных энергетических субстратов: содержание гликогена в печени на 23% выше, чем в контроле, уровень глюкозы крови на 19%. В то же время содержание в скелетной мышце продуктов гликолиза лактата и пирувата достоверно

снижалось на 33 и 30% соответственно. Снижение уровня триглицеридов в сыворотке крови крыс опытной и референтной групп на 8% указывает на высокую интенсивность окисления жировых энергетических ресурсов. Кроме того, курсовое введение «тетрафитона» предотвращает повреждение скелетных мышц в процессе ИФН, о чем свидетельствует снижение активности мембранных ферментов ЛДГ и КФК в сыворотке животных опытной группы на 49 и 43% соответственно по сравнению с аналогичными показателями в контроле.

Как следует из данных, представленных в таблице 3.4.2. на фоне курсового введения «тетрафитона» отмечается снижение интенсивности свободнорадикального окисления (СРО) липидов клеточных мембран и повышение активности эндогенной антиоксидантной системы: так, содержание МДА в сыворотке крови крыс опытной группы меньше на 12%, а активность каталазы, супероксиддисмутазы (СОД) и уровень восстановленного глутатиона выше на 13, 27 и 79% соответственно по сравнению с данными контрольной группы. При этом антиоксидантная активность испытуемого средства была сопоставима с таковой у препарата сравнения.

Таблица 3.4.2. Влияние «тетрафитона» на процессы СРО и состояние антиоксидантной системы у белых крыс при ИФН

Показатели	Группы животных			
	Интактная n=10	Контрольная (ИФН+ вода) n=10	Опытная (ИФН +тетрафитон) n=10	Референтная (ИФН + левзея) n=10
МДА, мкмоль/мл	11,4±1,12	12,5±1,21	11,1±1,23	11,3±1,13
ВГ, ммоль/л	0,4±0,04	0,2±0,01	0,3±0,03*	0,3±0,03*
Каталаза, мкат/л	23,8±0,49	20,7±2,01	23,5±2,21	22,5±2,21
СОД, усл.ед	1,7±0,49	1,1±0,12	1,4±0,12*	1,5±0,14*

Таким образом, курсовое профилактическое введение тетрафитона (100 мг/кг, 7 дней) оказывает выраженное актопротекторное действие, повышая общую физическую выносливость на фоне интенсивной физической нагрузки на 73% ($p\leq 0,05$). Повышение физической работоспособности обусловлено увеличе-

нием эффективности системы энергообеспечения в скелетных мышцах и особенно миокарде животных, получавших тетрафитон: увеличение содержания АТФ на 13 % и в 2,5 раза; содержание гликогена в печени на 23 % выше, уровень глюкозы крови на 19 %. Увеличение активности каталазы, СОД и уровня GSH обеспечивает повышение клеточной резистентности и является индикатором повышения мощности эндогенной антиокислительной защиты организма. Активация данной стресслимитирующей системы предупреждает повреждающее действие интенсивной физической нагрузки на скелетные мышцы и миокард. Цитопротекторное действие тетрафитона подтверждается снижением ферментемии (ЛДГ, КФК на 49 и 43 %, $p \leq 0,05$), обусловленной повреждением мембран кардиомиоцитов и мышечных волокон при интенсивной физической нагрузке.

3.5. Исследование анаболической активности «тетрафитона»

Исследования проводили на 27 неполовозрелых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 70-80 г. Эксперимент продолжался в течение 21 дня. Животных рандомизировали на 3 группы: опытная группа ежедневно получала водный раствор тетрафитона в дозе 100 мг/кг в объеме 5 мл/кг per os; референтная группа – деалкоголизированный раствор настойки левзеи сафлоровидной в дозе 5 мл/кг, контрольная группа – очищенную воду по аналогичной схеме. По окончании эксперимента проводили контрольное взвешивание, рассчитывали абсолютный прирост массы тела, затем декапитировали под легким эфирным наркозом. Внутренние органы (печень, сердце, четырехглавая мышца бедра) взвешивали (рассчитывали относительную массу по формуле: индекс органа= $m_{\text{органа}}/m_{\text{тела}}$ (мг/на 100 г веса крысы) определяли и замораживали в жидкому азоте. В гомогенате печени определяли содержание гликогена методом S. Seifter (1950), в гомогенате скелетной мышцы определяли содержание РНК и ДНК в модификации М.Г. Трудолюбовой (1977), общего белка методом Бредфорда (Bredford, 1976). В сыворотке крови определяли содержание соматотропного гормона (СТГ), глюкозы, общего белка, триацилглицеридов, холестерина, липопротеинов высокой и

низкой плотности (ЛПВП и ЛПНП) с использованием анализатора «SAPPHIRE 400» (Япония). Полученные результаты представлены в таблицах 3.5.1-3.5.2., рисунке 3.5.1.

Таблица 3.5.1. Влияние тетрафитона на прирост массы тела и относительную массу внутренних органов белых крыс

Показатели	Группы животных		
	Контрольная (H ₂ O) n=9	Опытная (тетра- фитон) n=9	Референтная (левзей) n=9
Прирост массы тела, г	39,1±2,21	45,2±1,71*	41,6±2,92
Масса органов, г	печень	3,7±0,35	3,8±0,03*
	сердце	0,4±0,02	0,4±0,02*
	четырехглавая мышца	0,7±0,04	0,9±0,05*

Результаты данной серии экспериментов указывают, что прирост массы тела животных опытной группы на 15 % превышал аналогичный показатель контрольной группы ($p\leq 0,05$). Показано, что у животных, получавших «тетрафитон», прирост массы тела происходит преимущественно за счет увеличения массы мышечной ткани: относительная масса четырехглавой мышцы бедра превышала показатель в контроле на те же 15% ($p\leq 0,05$), на 11% была выше относительная масса сердечной мышцы. Относительная масса печени животных опытной группы несколько уступала показателю в референтной группе, на 5 % превышая аналогичный показатель в контрольной группе.

Как следует из данных, приведенных в таблице 3.5.2., прирост массы тела неполовозрелых животных под влиянием длительного введения «тетрафитона» обусловлен активацией процессов синтеза белка, на что указывает достоверное повышение концентрации общего белка, РНК и ДНК в гомогенате скелетной мышцы на 70, 26 и 37% соответственно. Полученные данные свидетельствуют о наличии у испытуемого средства выраженной анаболической активности. Наряду с этим, у крыс опытной группы отмечается повышение содержания гликогена в печени в среднем на 10% по сравнению с контролем, что указывает на усиление гликоген-

синтезирующей функции печени и увеличение энергетического резерва организма под влиянием данного средства. Причем, анаболическое действие «тетрафитона» значительно превосходит препарат сравнения, экстракт левзеи сафлоровидной.

Таблица 3.5.2. Влияние «тетрафитона» на показатели белкового, углеводного и жирового обмена белых крыс

Показатели	Группы животных		
	Контрольная (H_2O) n=9	Опытная (тетрафитон) n=9	Референтная (левзея сафлоровидная) N=9
Печень			
гликоген, мг/ г	51,6±1,2	56,7±0,17*	63,1±2,82*
Скелетная мышца			
общий белок, мг/г	604,2±6,12	1030,2±82,91*	822,2±74,52
ДНК, мг/г	1,8±0,08	2,31±0,03*	2,2±0,81*
РНК, мг/г	20,7±1,03	28,5±1,42*	29,8±2,6*
Сыворотка крови			
глюкоза, ммоль/л	4,7±0,08	4,3±0,56	5,9±0,39*
холестерин, ммоль/л	2,1±0,06	1,8±0,14*	2,1±0,17
триглицериды, ммоль/л	0,6±0,03	0,8±0,07*	0,7±0,03
ЛПНП, ммоль/л	0,7±0,02	0,6±0,07*	0,7±0,03*
ЛПВП, ммоль/л	0,9±0,09	1,0±0,095	0,9±0,17

Анализ биохимических показателей сыворотки крови показал, что курсовое введение «тетрафитона» практически не оказывает влияние на содержание глюкозы крови, в то же время вызывает глубокие изменения липидного профиля. Так, в сыворотке крови опытной группы животных наблюдается достоверное понижение концентрации холестерина и ЛПНП (12 и 21 %) ($p\leq 0,05$), с одновременным повышением в плазме крови ТГ и ЛПВП на 26 и 10% соответственно.

Ведущую роль в регуляции метаболических процессов и в поддержания гомеостаза играют гормоны, в значительной степени определяя резистентность организма как в условиях покоя, так и при воздействии стрессоров. Учитывая роль СТГ - основного стимулятора соматического роста, гипертрофии сердца и других физиологических реакций в формировании структурного следа долговременной

адаптации, интересным представлялось сравнить уровень СТГ в сыворотке крови контрольных и опытных крыс (рисунок 3.5.1.).

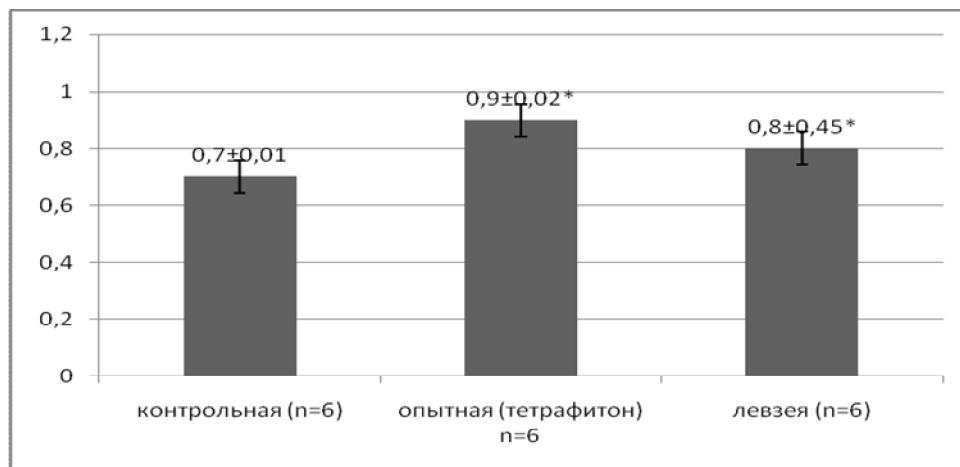


Рисунок 3.5.1. Влияние «тетрафитона» на содержание соматотропного гормона в сыворотке крови белых крыс (нг/мл)

Установлено, что курсовое введение «тетрафитона» интактным животным стимулирует секрецию СТГ, содержание СТГ в крови опытной группы животных на 28% превышало показатель в контроле ($p \leq 0,05$).

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ «ТЕТРАФИТОНА» ПРИ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫХ СОСТОЯНИЯХ

4.1. Стресспротективное действие «тетрафитона» на модели острого иммобилизационного стресса

Модель иммобилизационного стресса воспроизводили на белых крысах-самцах линии Wistar массой 160 – 180 г. Превентивно животным опытной группы внутривенно вводили водный раствор тетрафитона в дозе 100 мг/кг в объеме 5 мл/кг массы животных в течение 7 дней (однократно за 1 ч до кормления), последнее введение осуществляли за 1 час до стрессорного воздействия. В качестве препарата сравнения животным референтной группы вводили деалкоголизированный экстракт левзеи в объеме 5 мл/кг по аналогичной схеме. Животные контрольной группы получали дистиллированную воду. На 7 сутки эксперимента животных контрольной и опытных групп подвергали иммобилизационному стрессу, после чего животных декапитировали под легким эфирным наркозом и определяли массу тимуса, селезенки, надпочечников, измеряли содержание малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови, концентрацию восстановленного глутатиона, активность каталазы в сыворотке крови, активность супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах.

В данной серии экспериментов установлено, что профилактическое введение «тетрафитона» на модели иммобилизационного стресса оказывает выраженное антистрессорное действие, о чем свидетельствует уменьшение степени гипертрофии надпочечников на 21% ($p \leq 0,05$); достоверное увеличение относительной массы тимуса на 47% ($p \leq 0,05$), селезенки на 30% ($p \leq 0,05$), а также препятствует деструкции слизистой оболочки желудка белых крыс, по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы ($p \leq 0,05$) (таблица 4.1.1).

Таблица 4.1.1- Влияние «тетрафитона» на выраженность триады Селье у белых крыс при остром иммобилизационном стрессе

Группы животных	Относительная масса, мг/100 г			Индекс Паулса для эрозий
	тимус	селезенка	надпочечники	
Интактная (n=8)	66,4±4,79	272,7±22,74	20,1±2,64	0
Контрольная (n=8) (стресс + H ₂ O)	46,8±3,14	203,4±22,02	36,4±4,03	1,52
Опытная (n=8) (стресс + «тетрафитон»)	68,8±8,64*	264,3±32,61*	28,7±4,04*	0,91
Референтная (n=8) (стресс+левзея)	69,8± 4,11 *	208,3 ± 3,81*	32,7 ± 1,71	0,93

Так, у животных опытной группы, получавших испытуемый препарат, образование эрозий наблюдалось меньше, чем у крыс контрольной группы. Индекс Паулса для эрозий у животных, получавших испытуемое средство, был на 40 % ниже, чем у крыс контрольной группы.

Поскольку активация СРО в жизненно важных органах составляет ключевое звено патогенеза стрессорного повреждения, можно предположить, что существенный вклад в стресспротективное действие «тетрафитона» вносят его антиоксидантные свойства (таблица 4.1.2.).

Таблица 4.1.2. Влияние «тетрафитона» на интенсивность процессов СРО и состояние антиоксидантной системы у белых крыс при иммобилизационном стрессе

Показатель	Группа животных			
	Интакт (H ₂ O _{дист}) (n=8)	Контроль (стресс + H ₂ O _{дист}) (n=8)	Опытная группа (стресс + тет- рафитон) (n=8)	Референтная группа (стресс+-левзея) (n=8)
МДА в сыворотке крови, мкмоль/л	15,1±1,21	29,3±2,50	22,7±2,38*	23,1±2,21
Катализаза в сыворотке крови, мкат/л	15,2±1,21	8,7±0,38	10,2±0,54*	11,1±1,15
СОД в эритроцитах, усл.ед.	1,3±0,10	0,5±0,05	0,8±0,07*	0,8±0,08
Восстановленный глутатион в крови, мкмоль/л	436,3±45,04	217,9±21,22	293,4±26,71*	315,1±34,51

Данные, приведенные в таблице свидетельствуют, что превентивное курсовое введение «тетрафитона» на фоне иммобилизационного стресса оказывает выраженное антиоксидантное действие, что подтверждает снижение МДА в сыворотке крови на 23%, увеличение содержания восстановленного глутатиона в крови на 35%, а также повышение активности каталазы на 16 %, супероксиддисмутазы на 50%, по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы. При этом антиоксидантная активность испытуемого средства была сопоставима с таковой у препарата сравнения.

Как следует из таблицы 4.1.3., длительная иммобилизация сопровождается развитием синдрома цитолиза гепатоцитов, о чем свидетельствует повышение активности маркерных ферментов АлТ, АсТ в сыворотке крови контрольных животных.

Таблица 4.1.3. Влияние «тетрафитона» на биохимические показатели белых крыс на модели иммобилизационного стресса

Показатель	Группа животных			
	Интакт (H ₂ O _{дист}) (n=10)	Контроль (стресс + H ₂ O _{дист}) (n=10)	Опытная групп- па (стресс + тет- рафитон) (n=10)	Референтная группа (стресс- +левзея) (n=6)
АлТ, ед/л	110,2±12,21	144,6±14,8	123,66±13,5	115,4±12,6
АсТ, ед/л	198,2±18,12	383,8±39,4	277,2±22,8*	295,2±28,4
Триглицериды, ммоль/л	1,2±0,01	1,4±0,17	1,44±0,15	1,38±0,12
Общий холестерин, ммоль/л	1,9±0,23	2,9±0,24	2,59±0,28*	2,6±0,29*
ЛПВП,ммоль/л	1,48±0,01	1,6±0,02	1,59±0,01	1,48±0,01
ЛПНП, ммоль/л	0,3±0,02	0,6±0,06	0,4±0,05*	0,5±0,05*
Индекс атерогенности (ИА)	0,33	0,8	0,62	0,75

Курсовое введение «тетрафитона» в экспериментально-терапевтической дозе обладает гепатопротекторным действием, предупреждает указанный комплекс

стрессорных повреждений: так уровень активности мембраннысвязанных ферментов АлТ и АсТ в сыворотке крови снизился на 15 и 30 % соответственно. Кроме того, уровень холестерина в сыворотке крови понизился на 11%, существенно ограничилось проявления дислипидемии, индекс атерогенности снизился на 23 % по сравнению с показателями контрольной группы животных, что свидетельствует о нормализации функциональной активности печени.

Таким образом, курсовое профилактическое введение «тетрафитона» на модели острого иммобилизационного стресса оказывает выраженное стресслимитирующее действие, ограничивая развитие гипертрофии надпочечников, тимико-лимфатической инволюции, язвенного повреждения слизистой желудка. В патогенезе стрессорных повреждений выделяют несколько ведущих процессов, в числе которых индукция процессов свободнорадикального окисления с истощением потенциала эндогенной антиокислительной защиты и нарушения энергетического метаболизма клеток. Существенная роль в антистрессорном эффекте «тетрафитона», по-видимому, принадлежит его антиоксидантным свойствам, что подтверждается снижением содержания конечного продукта ПОЛ – МДА в сыворотке крови и повышением активности эндогенной антиоксидантной защиты, представленной каталазной активностью, утилизирующей перекись водорода, супeroxиддисмутазной, нейтрализующей супероксидрадикал и системой восстановленного глутатиона. Кроме того, тетрафитон обладает цитопротекторным действием: защищает от окислительной деструкции мембранны гепатоцитов, повышает активность мембраннысвязанных ферментов и рецепторов, предупреждает развитие атерогенной дислипидемии, повышает функциональную активность печени.

4.2. Стресспротективное действие «тетрафитона» на модели хронического умеренного стресса

Эксперименты проведены на 40 крысах обоего пола линии Wistar массой 160 – 200 г. Животные были разделены на четыре группы: 1 группа – интактные

животные ($n=10$); 2 группа – контрольные, подвергшиеся хроническому умеренному стрессу (ХУС) ($n=10$); 3 группа – опытная, животные получали испытуемое средство на фоне ХУС ($n=10$); 4 группа: референтная группа - животные получали препарат сравнения – деалкоголизированный экстракт левзеи сафлоровидной на фоне ХУС ($n=10$). В соответствии с результатами предварительного тестирования в «открытом поле» каждая группа животных была разделена на 2 подгруппы, с крайними паттернами поведения. Первая группа животных «активные» - характеризовалась коротким латентным периодом (LP) первого движения, высокой двигательной активностью, высокой исследовательской активностью (свыше 5 заглядываний в норы) и низким показателем вегетативного баланса (0-1 болюс за 5 мин). Вторая группа животных, «пассивные» с более продолжительным LP первого движения (свыше 10 с), низкой двигательной активностью, низкой исследовательской активностью (от 0 до 2-х заглядываний в норы), и более высоким показателем дефекации (2-4 болюса за 5 мин). После тестирования в ОП, животные были подвергнуты хроническому умеренному стрессу. Хронический умеренный стресс (ХУС) воспроизводили по 4-недельному протоколу (Rapp M, Willner P, 1991), с обязательной ежедневной сменой стрессора и времени проведения: 1 день: 16-часовая депривация пищи и воды; 2 день: 5-минутное подвешивание за шейную складку; 3 день: 1 – часовая иммобилизация в 50 мл конический тубус; 4 день: помещение в залитую водой клетку на 1 час; 5 день: наклон «домашней» клетки под углом 45° (на ночь), 6 день: помещение на сухую ограниченную площадку в бассейне с холодной ($8-10^\circ$) водой на 1 час; 7 день: без стресса. Животные предварительно были приучены к приему 2% раствора сахарозы. Начиная с 3 недели эксперимента животным опытной группы внутрижелудочно вводили водный раствор «тетрафитона» в дозе 100 мг/кг в объеме 5 мл/кг массы животных в течение 14 дней (однократно за 1 ч до кормления). В течение всего эксперимента раз в неделю (в среду утром) проводили сахарозный тест, для оценки уровня депрессии. В конце эксперимента животных тестировали: оценивали поведенческую

активность в «открытом поле», «приподнятом крестообразном лабиринте», вынужденного плавания Порсолта, модели подвешивания за хвост. После окончания эксперимента животных декапитировали под легким эфирным наркозом, определяли относительную массу тимуса, надпочечников, селезенки. В сыворотке крови измеряли концентрацию кортизола, фактора некроза опухоли, альфа, γ – интерферона, содержание глюкозы, общего холестерина, ТГ, ЛПНП и ЛПВП, интенсивность СРО оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (Темирбулатов, Селезнев, 1981).

Оценка поведенческой активности животных контрольной группы в тесте «открытое поле» показала, что у активных животных, которые считаются устойчивыми к стрессу, на фоне хронического умеренного непредсказуемого стресса снижается уровень горизонтальной двигательной активности, а вертикальная активность наоборот возрастает, тормозится поисково-исследовательская деятельность, увеличивается количество болюсов, по сравнению с интактными животными. В группе пассивных животных на фоне ХУС наблюдается резко выраженное увеличение двигательной реакции (в 5 и более раз возросла горизонтальная активность по периферии, в 1,5 раза в центре), количество болюсов также повысились на 59%, что можно рассматривать как свидетельство выраженного психомоторного возбуждения, сопровождаемого вегетативными расстройствами, вызванного хроническим воздействием стрессоров, что согласуется с данными о повышении двигательной активности стрессированных крыс Wistar в teste «открытого поля» над контрольным уровнем (Крупина Н.А., 2012). В teste принудительного плавания и МПХ отмечали увеличение времени иммобильности у крыс контрольной группы в 5 и 1,5 раза соответственно, по сравнению с показателями интактных крыс, причем более выраженные изменения наблюдались в группе пассивных животных, что свидетельствует о развитии у них более выраженного депрессивного состояния.

Курсовое введение «тетрафитона» в экспериментально-терапевтической до-

зе 100 мг/кг повышает стрессустойчивость крыс, с активной стратегией поведения, снижает уровень тревожности, подавляет чувство боязни открытого пространства, стимулирует двигательную, поисково-исследовательскую деятельность. Так, горизонтальная двигательная активность опытных животных повысилась на 30 %, в 2,5 раза увеличилась норковая деятельность, количество болюсов уменьшилось в 2,3 раза по сравнению с данными у животных контрольной группы ($p \leq 0,05$).

В группе пассивных животных курсовое введение «тетрафитона» вызывает противоположный эффект: горизонтальная активность по периферии и центре значительно снижается и приближается к показателю интактных животных (в 4,5 и 7 раз соответственно), количество болюсов также имеет тенденцию к снижению. То есть, в группе пассивных животных, считающихся более предрасположенными к развитию стрессиндуцированных патологических состояний (Судаков К.В., 2007) «тетрафитон» проявляет седативные свойства, уменьшая проявления «неврастенических» реакций и вегетативных расстройств на фоне хронического действия стрессоров (рис.4.2.1).

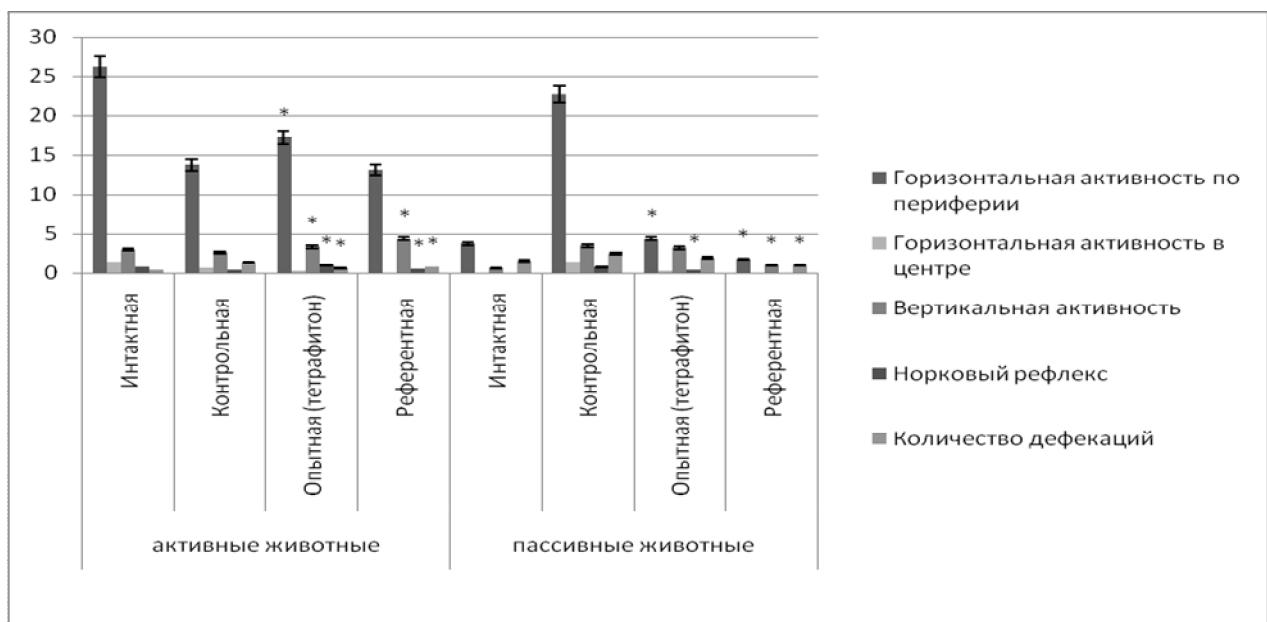


Рисунок 4.2.1. Влияние «тетрафитона» на поведение белых крыс в teste «открытое поле» на модели ХУС

Уровень двигательной, поисково-исследовательской активности и количество болюсов животных, получавших испытуемое фитосредство в teste ПКЛ также значительно отличались от контрольных животных. В группе активных животных (стрессустойчивых) количество заходов и время пребывания животных в открытых рукавах ПКЛ превышало показатели в контроле в 6 и 13 раз соответственно ($p \leq 0,05$), в 25 раз увеличилось количество свешиваний (таблица 4.2.1.).

Таблица 4.2.1. Влияние «тетрафитона» на поведенческую активность крыс в teste «приподнятый крестообразный лабиринт» на модели хронического умеренного стресса

Показатели		Активные				Пассивные			
		интакт- ная	кон- троль- ная	опытная	рефе- рентная	интакт- ная	кон- троль- ная	опыт- ная	рефе- рентная
Количе- ство заходов	Откры- тый ру- кав	1,0±0,11	0,2±0,01	1,2±0,01 *	0,6±0,01	0,1±0,0 1	0,2±0,02	0,8±0,0 5*	0,7±0,09 *
	Закры- тый ру- кав	1,4±0,05	2,0±0,02	1,4±0,01	2,4±0,03	0,2±0,0 3	1,2±0,01	0,8±0,0 1	2,0±0,03
Время пребы- вания, сек	Откры- тый ру- кав	108,2±1 1,21	10,2±0,1 4	133,5±14 ,21*	19,6±0,2 1*	15,7±1, 61	29,2±3,4	60,4±0, 57*	6,2±0,5
	Закры- тый ру- кав	184,5±1 7,51	290,3±3 1,52	166,3±21 ,84	279±25, 91	283,2±3 1,24	271±26, 42	276±24 ,21	277,2±2 5,61
	Цен- тральная площад- ка	7,3±0,9	0,5±0,1	7,7±0,8	0	2,6±0,1 8	0	107±1* 1	0
Вертикальная ак- тивность		3,4±0,0 4	3,2±0,02	3,2±0,03	3,6±0,04	2,2±0,0 3	2±0,2	2,8±0,1	2,6±0,02
свешивание		1,1±0,0 1	0,2±0,01	5,1±0,52	1,2±0,01	0	1,2±0,04	1,6±0,0 1	2,2±0,02
груминг		2±0,21	1,8±0,12	0,8±0,12	3±0,41	2,4±0,2 2	2±0,11	1,1±0,1	1,1±0,1
дефекации		0	0,4±0,01	0	0	0,2±0,0 1	3±0,41	0,2±0,0 1	0

В группе пассивных животных время пребывания и количество заходов в открытые рукава крыс опытной группы также превышали контрольные значение в 3 и 2 раза, количество свешиваний увеличилось на 60%, число болюсов умень-

шилось в 15 раз ($p \leq 0,05$). Практически треть тестового времени крысы, получавшие «тетрафитон» находились на центральной площадке.

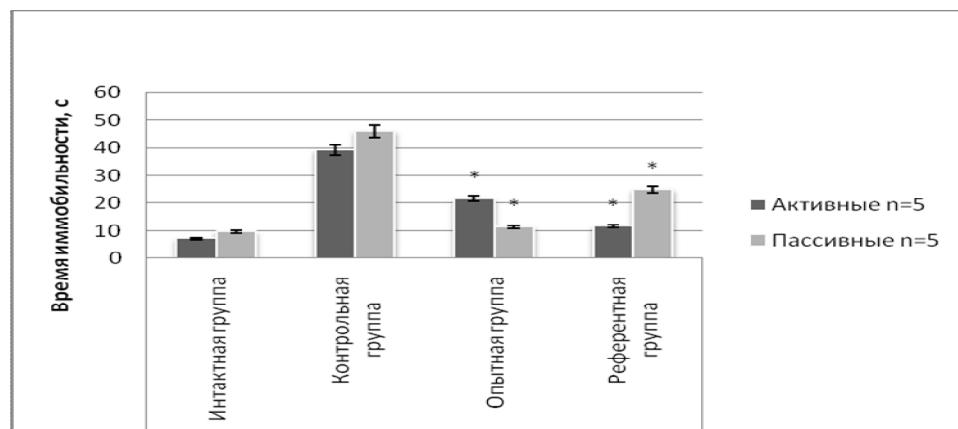


Рисунок 4.2.2. Влияние «тетрафитона» на время иммобильности животных в тесте вынужденного плавания Порсолта на модели ХУС

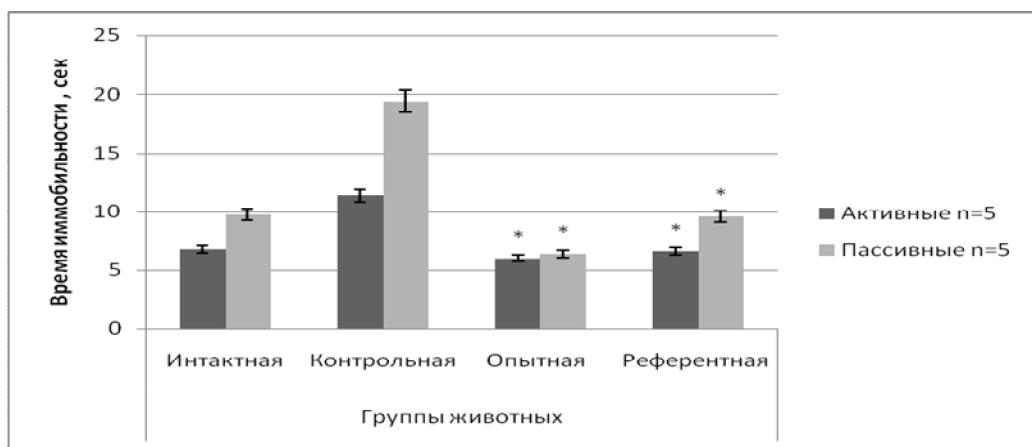


Рисунок 4.2.3. Влияние «тетрафитона» на время иммобильности животных в МПХ teste на модели ХУС

Введение испытуемого средства достоверно уменьшало период иммобильности в тесте вынужденного плавания и модели подвешивания за хвост (МПХ): в группе активных животных в 2, а в группе пассивных - в 3 раза по сравнению с показателями животных контрольных групп ($p < 0,05$) (рисунок 4.2.2.-4.2.3.), что указывает на наличие антидепрессивных свойств у испытуемого средства на фоне хронического действия стрессоров.

Ангедония – один из основных признаков развития депрессии, у крыс проявляется в снижении потребления сладкого, к которому у них врожденная тяга.

Хронический непредсказуемый стресс вызвал снижение потребления 2% раствора сахарозы в 3 раза, что является подтверждением развития у животных контрольной группы депрессивного состояния, причем достоверного различия в уровне потреблении сахарозы в группах с активной и пассивной стратегией поведения выявлено не было. На фоне курсового введения испытуемого фитосредства проявления ангедонии нивелировались: так потребление 2% раствора сахарозы у животных опытной группы достоверно не отличалось от животных интактной группы (таблица 4.2.2).

У всех животных после хронического стрессорного воздействия на вскрытии обнаружены признаки хронического стресса: инволюция тимуса и селезенки, гипотрофия надпочечников. У животных, получавших «тетрафитон» снизилась степень выраженности инволюции тимуса: относительная масса тимуса на 27 и 49 % выше, чем в контрольной группе, причем в группе предрасположенных к стрессу животных, стресспротективный эффект более выраженный ($p<0,05$). Показатели относительной массы селезенки обоих опытных групп практически не отличались от показателей контрольной группы. Значительные изменения наблюдались в надпочечниках: относительная масса надпочечников в контрольной группе значительно снизилась, что свидетельствует о выраженной гипотрофии надпочечников, причем большая степень гипотрофии наблюдалась в группе «пассивных» животных, у животных получавших испытуемое средство, относительная масса надпочечников значительно повысилась на 60 и 63 % соответственно у «активных» и «пассивных» животных (таблица 4.2.2).

Снижение относительной массы надпочечников в контрольной группе животных, сопровождается снижением секреции глюкокортикоидов. Курсовое введение «тетрафитона» предотвращает развитие стрессорного истощения, сопровождается повышением активности пучковой зоны коры надпочечников, о чем свидетельствует увеличение содержания кортизола на 34 и 26% по сравнению с аналогичным показателем в группах контроля ($p\leq0,05$).

Таблица 4.2.2. Влияние «тетрафитона» на выраженность ангедонии, изменений внутренних органов на модели хронического умеренного стресса (ХУС)

Показатели		Группы животных				
		интактная n=10	контрольная (ХУС+ вода) n=10	опытная (ХУС +тетрафитон) n=10	референтная (ХУС + левзея) n=10	
Сахарозный тест, мл/час		6,0±0,53	2,0±0,11	5,5±0,52*	4,5±0,51*	
Относительная масса, мг/100 г	тимус	A	128,4±12,14	82,1±19,18	104,9±14,57*	
		П	97,2±4,76	79,2±10,35	107,8±14,01*	
	селезенка	A	370,7±45,5	338,3±53,75	369,3±48,01	
		П	359,4±32,9	343,5±31,83	349,3±42,85	
	надпочечники	A	25,6±6,75	19,1±3,54	30,5±2,86*	
		П	26,1±3,88	14,7±2,87	24,1±4,42*	
Кортизол, нмоль/л		A	45,0±19,37	34,0±6,35	45,5±16,6*	
		П	40,2±6,65	35,2±4,94	44,5±4,37*	
					45,4±17,91*	

Примечание: А – «активные» животные; П – «пассивные» животные

Хроническое воздействие слабых стрессоров вызывает у животных развитие депрессивного состояния, гипотрофию надпочечников, проявляющееся снижением секреции кортикостероидов и сопровождается развитием метаболических расстройств. Так, в группе контрольных животных наблюдается выраженная гипогликемия, уровень глюкозы крови снижается в среднем на 36 % ($p\leq 0,05$), независимо от психотипа, снижение холестерина, ЛПВП, повышение триглицеридов в плазме крови. Курсовое введение испытуемого средства нивелирует метаболические расстройства крыс с активной и пассивной стратегией поведения: уровень глюкозы крови достоверно повышается на 61 и 91 %, до уровня интактных животных, в крови активных животных снижается содержание триглицеридов на 21 %, увеличивается содержание антиатерогенных ЛПВП в сыворотке крови на 61 и 15%, повышается протромбиновый индекс (ПТИ), что указывает на повышение функциональной активности печени и нормализацию липидного обмена (таблица 4.2.3).

Таблица 4.2.3. Влияние «тетрафитона» на метаболический профиль белых крыс на модели хронического умеренного стресса (ХУС)

Показатели	Активные животные			
	Интактная n=5	Контрольная (стресс+вода) n=5	Опытная (стресс+тетрафитон) n=5	Референтная (стресс+ экстракт левзеи) n=5
Глюкоза, ммоль/л	6,5±0,65	4,2±0,46	6,8±0,61*	5,1±0,44*
Холестерин, ммоль/л	2,3±0,31	1,9±0,1	2,3±0,21*	2,1±0,21
Триглицериды, ммоль/л	0,6±0,12	0,9±0,14	0,7±0,08*	0,4±0,02
ЛПВП, ммоль/л	2,3±0,21	1,8±0,14	2,9±0,01	2,6±0,23
ЛПНП, ммоль/л	0,3±0,02	0,4±0,04	0,3±0,02	0,3±0,02
ПТИ, ед	71,4±9,51	65,6±7,2	68,2±3,6	64,2±6,5
Пассивные животные				
Глюкоза, ммоль/л	6,1±0,71	3,8±0,27	7,3±0,99*	5,8±0,27
Холестерин, ммоль/л	1,9±0,24	1,8±0,21	1,7±0,17	2,2±0,19
Триглицериды, ммоль/л	0,7±0,05	0,7±0,11	0,6±0,07	0,7±0,09
ЛПВП, ммоль/л	2,2±0,22	1,8±0,02	2,1±0,02*	2,1±0,03*
ЛПНП, ммоль/л	0,3±0,03	0,3±0,03	0,3±0,02	0,3±0,03
ПТИ, ед	68,8±6,52	62,5±7,21	71,8±6,51*	65,3±4,31

Кроме того, установлено, что курсовое введение «тетрафитона» нормализует цитокиновый профиль белых крыс на фоне хронического эмоционального стресса. Так, уровень γ -интерферона, который на фоне ХУС поднялся почти в 5 раз, на фоне введения «тетрафитона» нормализовался до уровня интактных животных. Под влиянием испытуемого средства нормализовался уровень фактора некроза опухоли – α , который на фоне ХУС снизился почти в 2 раза в группе контрольных животных и приблизился к уровню интактных животных (таблица 4.2.4).

Таблица 4.2.4. Влияние «тетрафитона» на цитокиновый профиль белых крыс на модели хронического умеренного стресса (ХУС)

Показатели	Группы животных			
	интактная n=10	Контрольная (ХЭС+ вода) n=10	Опытная (ХЭС +тетрафитон) n=10	Референтная (ХЭС + левзея) n=10
Фактор некроза опухоли α , пг/мл	3,1±1,58	1,5±0,72	2,3±0,57	2,1±1,41
γ -интерферон, пг/мл	23,8±2,51	114,2±15,5	20,2±1,57*	16,7±2,5*

Известно, что в патогенезе стрессорных повреждений одним из ведущих механизмов является индукция процессов свободнорадикального окисления с истощением потенциала эндогенной антиокислительной системы. Полученные нами результаты свидетельствуют об адаптационных изменениях реакций свободнорадикального окисления при длительных воздействиях стрессоров. Так, обнаружено, что достоверных различий в содержании МДА в сыворотке крови крыс интактной и контрольной группы на фоне хронического умеренного стресса не обнаружено. Интенсивность СРО у животных, получавших «тетрафитон» не отличается от интактных животных.

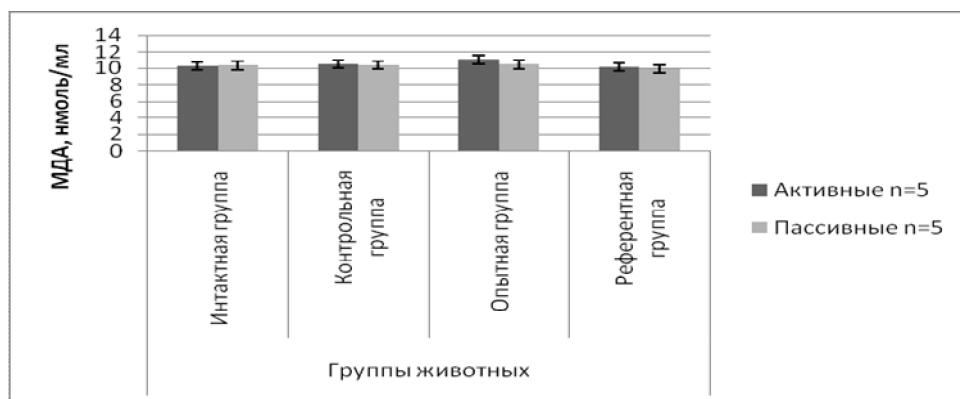


Рисунок 4.2.4. Влияние тетрафитона на интенсивность СРО на модели хронического умеренного стресса

Таким образом, результаты данного исследования свидетельствуют, что профилактическое курсовое введение комплексного растительного средства «тетрафитон» препятствует развитию стрессиндуцируемой депрессии на фоне хрони-

ческого умеренного непредсказуемого стресса, что выражается в предотвращении развития ангедонии, снижении степени гипокортицизма и лимфатико-гипопластического диатеза. Одновременно, в группе активных животных введение «тетрафитона» проявляет анксиолитические свойства: уменьшает проявления тревоги, подавляет чувство боязни открытого пространства, стимулирует двигательную, поисково-исследовательскую деятельность, в группе пассивных животных курсовое введение тетрафитона оказывает в большей степени транквилизирующее седативное действие, уменьшая проявления «неврастенических» реакций и вегетативного дисбаланса на фоне хронического действия стрессоров. Обнаружено, что на фоне курсового введения тетрафитона нивелируются метаболические стресс-индуцированные расстройства: нормализуется уровень глюкозы крови, липидный и белковый обмен животных. Показано, что курсовое введение тетрафитона на модели хронического умеренного стресса нормализует уровень γ -интерферона и фактора некроза опухоли – α до уровня интактных животных, что указывает о наличии у тетрафитона иммуномодулирующей активности.

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ «ТЕТРАФИТОНА» НА МОДЕЛИ АЗАТИОПРИНОВОЙ ИММУНОДЕПРЕССИИ

Одной из наиболее серьезных дисфункций, возникающих у млекопитающих при стрессорных воздействиях, является нарушение иммунного статуса организма. В связи с этим, было проведено исследование влияния «тетрафитона» на показатели клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунитета интактных животных и на модели азатиоприновой иммунодепрессии.

Эксперименты проведены на 120 мышах-самцах линии F₁ (СВАхС57Bl/6) массой 18-20 г, полученных из питомника РАМН «Столбовая». Действие исследуемого средства на показатели клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунитета было изучено на интактных животных, а также животных, находящихся в состоянии иммунодепрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном, который вводили животным в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней (Лазарева, 1985). Водный раствор тетрафитона в дозе 100 мг/кг вводили 1-ой опытной группе на фоне азатиоприна и 2-ой опытной группе интактных мышей в объеме 5 мл/кг перорально 1 раз в сутки в течение 14 дней. Интактная и контрольная группы животных получали воду очищенную по аналогичной схеме. Исследования проводили на 20 день эксперимента.

5.1. Влияние на состояние макрофагального звена иммунитета

Состояние макрофагального звена иммунного ответа оценивали в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши. Оптическую плотность лизата клеток перитонеального эхссудата, отражающую количество туши, поглощенной перитонеальными макрофагами, определяли на спектрофотометре «CECIL-2011» при длине волны 620 нм.

Таблица 5.1.1. Влияние «тетрафитона» на фагоцитарную активность перitoneальных макрофагов

Группы животных	Фагоцитарный индекс (E _{620 нм}), у.е. опт.пл.
Интактная, n=10	0,680±0,043
Контрольная (азатиоприн), n=10	0,332±0,026
Опытная 1(азатиоприн + тетрафитон), n=10	0,628±0,031*
Опытная 2 (тетрафитон), n=10	0,632±0,044

При исследовании влияния «тетрафитона» на фагоцитарную активность перitoneальных макрофагов интактных мышей в отношении частиц коллоидной туши установлено, что испытуемое средство не вызывает значимого изменения фагоцитарного индекса по сравнению с данными в интактной группе. При введении данного средства животным с иммунодефицитом наблюдали увеличение фагоцитарного индекса в 1,9 раза по сравнению с данными в контрольной группе (таблица 5.1.1).

5.2. Влияние на состояние клеточного звена иммунитета

Действие испытуемого средства на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике. Мышей сенсибилизировали внутрибрюшинным введением 0,1% взвеси эритроцитов барана (ЭБ) в физиологическом растворе. На 4 сутки под подошвенный апоневроз задней лапки вводили разрешающую дозу антигена – 50 мкл 50% взвеси ЭБ. В контролateralную лапку инъецировали физиологический раствор в том же объеме. Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 часа по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ (I_p) рассчитывали по формуле: I_p = [(M_{оп} – M_к) / M_к]Ч100%, где M_{оп} – масса опытной лапы, M_к – масса контрольной лапы.

При исследовании влияния «тетрафитона» на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что испытуемое средство нормализует индекс данной реакции в условиях азатиоприновой иммуносупрессии.

Таблица 5.2.1. Влияние «тетрафитона» на выраженность реакции (ГЗТ) на модели азатиоприновой иммуносупрессии.

Группы животных	Ир ГЗТ, %
Интактная, n=10	37,4±2,56
Контрольная (азатиоприн), n=10	23,3±1,84
Опытная 1(азатиоприн + тетрафитон), n=10	35,9±1,95*
Опытная 2 (тетрафитон), n=10	33,74±1,69

Введение азатиоприна приводило к снижению Ир ГЗТ на 38% по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении испытуемого средства на фоне иммунодепрессии наблюдали увеличение Ир ГЗТ в 1,5 раза по сравнению с показателем контрольной группы животных, тогда как у интактных животных при использовании экстракта не отмечали достоверного изменения данного показателя по сравнению с данными в интактной группе (таблица 5.2.1.).

5.3. Влияние на состояние гуморального звена иммунитета

Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по A.J.Cunningham (1965). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно ЭБ в дозе 2×10^8 клеток на мышь. Реакцию ставили на 5-е сутки после иммунизации. Полученные результаты представлены в таблице 5.3.1.

При исследовании влияния «тетрафитона» в дозе 100 мг/кг на процессы антителообразования установлено, что испытуемое средство нормализует показатели гуморального иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии.

Таблица 5.3.1. Влияние «тетрафитона» на антителообразование на модели азатиоприновой иммуносупрессии

Группы животных	Абсолютное число АОК на селезенку	Число АОК на 10^6 спленоцитов
Интактная, n=10	46199±2203	272±22
Контрольная (азатиоприн), n=10	29328±2368	163±10
Опытная 1(азатиоприн + тетрафитон), n=10	46956±3912*	250±20*
Опытная 2 (тетрафитон), n=10	47026±3521	261±19

Введение азатиоприна приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на 10^6 спленоцитов на 37% и 40%, соответственно, по сравнению с теми же показателями в интактной группе. При введении исследуемого средства на фоне иммуносупрессии наблюдали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов; при этом первый показатель превышал уровень азатиоприновой супрессии в 1,6 раза, а второй - в 1,5. При введении «тетрафитона» интактным животным установлено, что данное средство не изменяет показатели гуморального иммунитета у интактных животных.

Таким образом, исследование иммуномодулирующих свойств «тетрафитона» выявлена его эффективность по отношению к реакциям клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците, вызванном цитостатиком азатиоприном. «Тетрафитон» в дозе 100 мг/кг способен нивелировать супрессорное действие азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов. В то же время, исследуемое средство не изменяет показатели иммунитета интактных животных. Это свойство присуще лишь истинным иммуномодуляторам, обладающим активностью только в условиях иммунодепрессии.

ГЛАВА 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАЗИСНЫХ МЕХАНИЗМОВ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ «ТЕТРАФИТОНА»

В основе стресспротективного действия адаптогенов лежат механизмы, реализуемые как на системном, так и на клеточном и молекулярном уровнях. Для выяснения возможных механизмов действия и для определения роли различных компонентов фитосредства в реализации стресспротективной активности исследовали антиоксидантную активность фитосредства «тетрафитон» и входящих в его состав компонентов в условиях *in vitro*.

6.1. Изучение мембраностабилизирующей активности «тетрафитона»

Мембраностабилизирующую активность экстракта определяли *in vitro* по снижению степени гемолиза эритроцитов, который вызывали реагентом Фентона (перекисный гемолиз) и добавлением дистilledированной воды (осмотический гемолиз) (Ковалев, 1986). Действие испытуемого средства на гемолиз оценивали в процентном отношении к контролю (без добавления «тетрафитона» в инкубационную среду). Полученные результаты подвергали логарифмированию по концентрационной шкале с последующим регрессионным анализом и определением величины 50% ингибирования гемолиза эритроцитов на фоне введения «тетрафитона» (мг/мл) в инкубационную среду.

Корреляционный анализ данных проводили с применением пакета программ AdvancedGraphver 2.11 (Alementum Software Inc.), а статистическую обработку – согласно рекомендациям (Дерффель, 1996).

При исследовании мембраностабилизирующей активности «тетрафитона» установлено, что испытуемое средство предупреждает гемолиз эритроцитов донорской крови. Как следует из данных, представленных в таблице 6.1.1., испытуемое средство в указанных концентрациях оказывает выраженное мембраностабилизирующее действие, о чем свидетельствует уменьшение степени перекисного и осмотического гемолиза. Так, в концентрации 80 мг/мл перекисный гемо-

лиз уменьшался на 78,2%, а осмотический на 52,5 %, что указывает на присутствие антирадикального компонента в механизме мембраностабилизирующего действия «тетрафитона».

Таблица 6.1.1. Влияние «тетрафитона» на гемолиз эритроцитов донорской крови

Концентрация «тетрафитона», мг/мл	Снижение перекисного гемолиза (% от контроля)	Снижение осмотического гемолиза (% от контроля)
80	78,2±5,45*	52,5±8,14*
20	62,7±4,31*	31,2±7,15*
10	32,8±3,54*	23,1±3,12*
1	10,8±2,14*	8,9±0,12
0,1	6,1±0,12	5,4±0,11

Известно, что реагент Фентона широко используется в экспериментальной практике для генерирования свободных радикалов, которые инициируя ПОЛ мембран эритроцитов, вызывают их гемолиз. Можно предположить, что ослабление «тетрафитоном» гемолиза, вызванного реагентом Фентона, обусловлено инактивацией этих высокореакционных радикальных соединений. Торможение осмотического гемолиза возможно благодаря наличию осмотических свойств у испытуемого средства.

6.2. Исследование антиоксидантной активности «тетрафитона» и его компонентов

6.2.1. Исследование антирадикальной активности

Антирадикальную активность по отношению к 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил-радикалу (DPPH) определяли бессубстратным методом по методу (Seyoum A. и соавт. (2006); антирадикальную активность в отношении связывания ABTS•+ катион радикала определяли по методу (Leenheer A. С соавт. 1979) с некоторыми изменениями. Полученный раствор ABTS+ перед проведением анализа разводили дистиллированной водой до оптической плотности

$A_{734}=0,700\pm0,02$ о. е. Измерения приводили спектрофотометрическим методом при длине волны 734 нм.; антирадикальную активность по отношению к супероксид-анион радикалу (O_2^-) - в неэнзиматической системе феназин-метосульфат/НАДН определяли по методу Chen A.-S. с соавт. (2003); антирадикальную активность по отношению к NO определяли по методу Govindarajan R. с соавт. (2003). В качестве препаратов сравнения использовали гидрохинон, кверцетин (Sigma). Величиной антиоксидантной активности считали концентрацию исследуемых средств, необходимую для ингибирования 50% реактивных частиц (IC_{50}). Все эксперименты проводили в трехкратной повторности.

Показано, что исследуемое средство обладает выраженной антирадикальной активностью в отношении связывания стабильного DPPH-радикала ($IC_{50}^{DPPH} = 87$ мкг/мл) (таблица 6.2.1).

Таблица 6.2.1. Антирадикальная активность «тетрафитона» и входящих в его состав компонентов

Объект	DPPH, IC_{50} , мкг/мл ^a	ABTS ^{•+} , IC_{50} , мкг/мл ^a	O_2^- , IC_{50} , мкг/мл ^a	NO, IC_{50} , мкг/мл ^a
Тетрафитон	87,0±2,23	6,0±0,21	18,2 ± 0,3	1650,4 ± 11,0
<i>Zingiber officinale</i>	320,1±5,11	10,±0,32	42,0 ± 1,7	> 5000
<i>Caragana spinosa</i>	4,5±0,11	2,5±0,07	0,32±0,01	190±9,01
<i>Inula helenium</i>	42,2±1,24	4.5±0.11	63,6 ± 0,2	478.0 ± 11.2
<i>Elletaria cardamomum</i>	320,5,11	15,1±0,81	319,0 ± 10,8	352,0 ± 10,9
Гидрохинон ^b	3,7±0,10	1,51 ± 0,06	251,1 ± 8,2	56 ± 1
Кверцетин ^b	9,9±0,21	0,52 ± 0.02	32,0 ± 1,4	150±4

Примечание. ^a ОАЕ – общая антиоксидантная емкость; ^b – вещества сравнения.

Величина антирадикальной активности исследуемых средств по отношению к DPPH возрастает в ряду: *Z. officinalis* (320 мкг/мл) = *E. cardamomum* < тетрафитон < *I. helenium* < *C. spinosa* (4,5 мкг/мл). Наибольший вклад в проявление данного вида активности «тетрафитона» вносят *I. helenium* и

C. spinosa, которые характеризуются высоким содержанием флавоноидов (рутин и нарциссина), а также фенилпропаноидов.

Выявлено, что «тетрафитон» обладает выраженной антирадикальной активностью по отношению к ABTS^{•+}-катион радикалу ($IC_{50}^{ABTS} = 6$ мкг/мл). Причем, способность отдельных компонентов исследуемого средства к связыванию ABTS^{•+}-катиона радикала возрастает в ряду: *Elletaria cardamomum* (15 мкг/мл) < *Zingiber officinalis* < тетрафитон < *Inula helenium* < *Caragana spinosa* (2,5 мкг/мл). Антирадикальная активность исследуемого средства и его компонентов несколько уступает референтным веществам.

Наиболее выраженная антирадикальная активность в отношении к супероксидным радикалам установлена у *C. spinosa* ($IC_{50} = 0,32$ мкг/мл), которая по-видимому, вносит наибольший вклад в активность тетрафитона ($IC_{50} = 18,2$ мкг/мл), что превосходит таковую у препаратов сравнения. Данный вид активности «тетрафитона» обусловлен, очевидно, флавонолгликозидами, входящими в состав *C. spinosa*.

В отношении к связыванию NO выявлена умеренная активность ($IC_{50} = 1650$ мкг/мл), значительно уступающая таковой гидрохинона ($IC_{50} = 56,2$ мкг/мл) и кверцетина ($IC_{50} = 150,1$ мкг/мл). Наибольшей активностью в отношении связывания NO обладает *C. spinosa* ($IC_{50} = 190,0$ мкг/мл).

6.2.2. Определение Fe²⁺-хелатирующей активности

Определение Fe²⁺-хелатирующей активности является важным элементом определения АОА средств, т.к. известно, что металлы переменной валентности в присутствии активных форм кислорода запускают цепные реакции окислительной деградации биомолекул. Fe²⁺-хелатирующую активность исследуемых средств определяли с использованием модифицированного о-фенантролинового метода (Olennikov, Tankhaeva, 2012). Препаратами сравнения считали гидрохинон, кверцетин (Sigma). Полученные результаты представлены в таблице 6.1.2.

Таблица 6.2.2 - Fe^{2+} -хелатирующая активность «тетрафитона» и его компонентов в модельной системе

Объект	ЖСА, IC_{50} , мкг/мл
Тетрафитон	279.0 ± 11.2
<i>Zingiber officinalis</i>	245.0 ± 9.07
<i>Caragana spinosa</i>	652.0 ± 10.34
<i>Inula helenium</i>	1120 ± 12.67
<i>Elletaric cardamomum</i>	302.0 ± 11.9
Гидрохинон ^б	>5000
Кверцетин ^б	>5000

Установлено, что реализация антиоксидантной активности «тетрафитона» связана также с наличием выраженной Fe^{2+} -хелатирующей активности: уровень половинного ингибирования (IC_{50}) составил 279 мкг/мл, что существенно превосходит железосвязывающую активность у веществ сравнения гидрохинона и кверцетина ($\text{IC}_{50} > 5000$). Очевидно, хелатирующая активность «тетрафитона» обусловлена присутствием в его составе *Z. officinalis* ($\text{IC}_{50} = 245$ мкг/мл) и *E. cardamomum* ($\text{IC}_{50} = 302$ мкг/мл), содержащих в значительных количествах полисахариды, обладающих данным видом активности (Chen et al., 2012).

6.2.3. Антиоксидантная активность в системе β -каротин-олеиновая кислота- H_2O_2 -ДМСО (СВА)

Антиоксидантную активность оценивали по степени влияния исследуемого фитосредства на динамику перекисной деградации β -каротина (СВА-метод) в системе олеиновая кислота-ДМСО- H_2O_2 (Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., 2007).

Выявлено, что тетрафитон проявляет способность к защите биологического субстрата от перекисного повреждения (СВА-метод) (таблица 6.1.6.).

Таблица 6.1.6. Антиоксидантная активность в системе β -каротин-олеиновая кислота- H_2O_2 -ДМСО (СВА)

Объект	СВА, IC_{50} , мкг/мл ^a
Тетрафитон	39.26±1.31
<i>Zingiber officinalis</i>	43.73±2.07
<i>Caragana spinosa</i>	25±0.71
<i>Inula helenium</i>	150±3.37
<i>Elletaric cardamomum</i>	151.36±4.21
Гидрохинон ⁶	145.14±4.35
Кверцетин ⁶	6.02±0.18

Антиоксидантная активность испытуемого фитосредства, определенная методом СВА, составляет 39,26 мкг/мл., превосходя по активности препарат сравнения – гидрохинон ($IC_{50}=145,14$ мкг/мл), несколько уступая кверцетину ($IC_{50}=6,02$ мкг/мл). Антиоксидантная активность фитосредства и его компонентов убывает в ряду: *C. spinosa* ($IC_{50}=25$ мкг/мл) > тетрафитон > *Z. officinalis* > *I. helenium* > *E. cardamomum* ($IC_{50} = 151,36$ мкг/мл). Таким образом, наибольший вклад в АОА в отношении инактивации молекул перекиси водорода обладает *C. spinosa* ($IC_{50}=25$ мкг/мл).

Таким образом, комплексное растительное средство «тетрафитон» обладает выраженной антирадикальной активностью в отношении связывания стабильного DPPH-радикала, наибольший вклад в проявление данного вида активности вносят *I. helenium* и *C. spinosa*, которые характеризуются высоким содержанием флавоноидов (рутин и нарциссина), а также фенилпропаноидов. Выявлено, что «тетрафитон» обладает способностью к инактивации активных форм кислорода (O_2^- и NO). Данный вид активности фитосредства обусловлен, в большей степени, присутствием в его составе *C. spinosa*, характеризующейся высоким содержанием флавонолгликозидов. Установлено, что реализация антиоксидантной активности

«тетрафитона» связана также с наличием выраженной Fe^{2+} -хелатирующей активности, обусловленной присутствием в его составе *Z. officinale* и *E. cardamomum*, содержащих в значительных количествах полисахариды, обладающих данным видом активности.

6.3. Исследование влияния тетрафитона на активность ферментов в модельной системе *in vitro*

Учитывая ключевую роль некоторых ферментов антиоксидантной защиты, энергетического и пластического обмена в адаптационной перестройке организма исследовали влияние растительного средства тетрафитон на активность следующих ферментов: глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы, каталазы и пируваткиназы *in vitro* (Бродова и др., 2004). Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. Полученные результаты представлены в таблице 6.2.1.

Таблица 6.3.1. Влияние «тетрафитона» на активность ферментов *in vitro*

Тетрафитон/концентрация	Активность фермента, мкмоль/мин/мг белка			
	глутатионредуктаза	пируваткиназа	глутатионпероксидаза	каталаза
Контроль	18,33±0,81	2,13±0,10	3,87±0,13	21,93±0,91
Тетрафитон/50мкг/мл	17,28±0,64	2,35±0,35	7,13±0,13*	19,56±0,47
Тетрафитон/100мкг/мл	16,72±0,64	2,85±0,15*	7,65±0,85*	21,92±0,01

В тест-системе *in vitro* «тетрафитон» продемонстрировал выраженный дозозависимый эффект в виде повышения активности глутатионпероксидазы (на 84-97%, $p\leq 0,05$), которая имеет огромное значение для инактивации активных форм кислорода, катализируя восстановление пероксида водорода и липидных гидро-пероксидов с помощью восстановленного глутатиона (GSH). Кроме того, «тетрафитон» достоверно повышает активность пируваткиназы в модельной системе на 11-33% в концентрации 50, 100 мкг/мл соответственно ($p\leq 0,05$), что свидетельствует о повышении эффективности энергетических процессов в клетке. В то же время, испытуемое средство практически не влияет на активность глутатионредуктазы и каталазы в модельной системе *in vitro*.

ГЛАВА 7. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что многокомпонентное растительное средство с условным названием «тетрафитон» обладает широким спектром адаптогенной активности, повышает общую резистентность организма лабораторных животных к действию повреждающих и стрессовых факторов различной природы. В частности, профилактическое курсовое введение тетрафитона повышает устойчивость организма животных в условиях острого иммобилизационного и хронического умеренного эмоционального стресса, интенсивных физических нагрузок, гипоксических состояниях различной природы. Выявлено, что под влиянием тетрафитона формируется состояние неспецифически повышенной сопротивляемости СНПС).

Механизмы адаптогенного действия экстрактов растений обусловлены эффектами биологически активных веществ, относящихся к различным группам химических соединений: полифенолы, тетрациклические тритерпеноиды, оксилипины. Фенольный состав «тетрафитона» представлен группами фенилпропаноидов, флавоноидов и арилгептаноидов. Основными фенилпропаноидами являются 3,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота, кофейная кислота и 1,5-ди-*O*-кофеилхинная кислота, обнаруженные в корнях *Inula helenium*. В составе флавоноидов преобладают маркерные компоненты побегов *Caragana spinosa* – 3-*O*-рутинозиды кверцетина (рутин) и изорамнетина (нарциссин). Арилгептаноиды, как типичные компоненты *Zingiber officinalis*, представлены 6 соединениями с доминирующими [6]-шogaолом и [8]-шогаолом. Общее содержание фенольных соединений в фитомиксе составляет 1.51%, а флавоноидов – 0.56%. (Оленников, 2012).

Наиболее значительной группой соединений в составе экстрактивных веществ тетрафитона являются углеводы, содержание которых может составлять до 60% от массы экстрактивных веществ. Содержание свободных углеводов составляет 9.43%, водорастворимых полисахаридов – 6.60%. Следует отметить, что доминирующей группой углеводов являются фруктозосодержащие компоненты –

глюкофруктаны, наличие которых обусловлено присутствием *Inula helenium*.

Главным фармакологическим свойством адаптогенов, определяющих их защитные эффекты является стресс-протективное действие. Курсовое профилактическое введение «тетрафитона» оказывает выраженное стресс-протективное действие, ограничивая развитие гипертрофии надпочечников, тимико-лимфатической инволюции, предотвращая язвенные повреждения слизистой желудка.

В патогенезе стрессорных повреждений выделяют несколько ведущих процессов, реализующихся на различных гомеостатических уровнях, в числе которых индукция процессов свободнорадикального окисления клеточных мембран, с истощением потенциала эндогенной антиокислительной защиты и нарушение энергетического метаболизма клеток (Пшенникова М.Г., 2001).

Существенная роль в антистрессорном эффекте «тетрафитона» принадлежит его антиоксидантным свойствам, что подтверждается снижением содержания конечного продукта ПОЛ – МДА в сыворотке крови и повышением активности эндогенной антиоксидантной защиты, представленной каталазой, супероксид-дисмутазой активностью, и системой восстановленного глутатиона.

«Тетрафитон» является сложной многокомпонентной смесью биологически активных веществ, в том числе фенольных соединений, которые, как известно, являются эффективными природными антиоксидантами. В частности, присутствующий в его составе корень имбиря обладает выраженной антирадикальной активностью, сопоставимую по величине с ионолом, а по длительности превосходящую его. Причем, быстрая первая фаза реакции обусловлена гингеронами, более медленная фаза проходит с участием зингиберинов и других сесквитерпеноевых углеводородов, маркерных соединений фитомикса (Алинкина Е.С., 2012; N.Tohma et al., 2016). Антиоксидантная активность караганы остистой обусловлена флавонол-гликозидами, обладающими выраженной антирадикальной активностью в отношении ДФПГ[•] и ABTS^{•+} - катион радикала, инактивацией суперок-

сидного радикала O_2^- и NO. Высокая Fe^{2+} -хелатирующая активность обусловлена полисахаридами, наличествующие в корневищах имбиря, девясила высокого и плодах кардамона. Комплекс различных БАВ представленных в полиэкстракте обеспечивает пролонгированное антирадикальное действие, характерное для многих сложных по составу природных экстрактов. В соответствии с открытым Г.В. Карпухиной, З.С. Майзусом и Н.М.Эмануелем (1981) принципом, антиоксидантная активность смеси антиоксидантов возрастает во много раз и превосходит суммарную антиоксидантную активность компонентов смеси за счет переноса водорода с менее активных соединений на более активные (окисленные) и реактивации последних. Антиоксидантная активность тетрафитона подтверждена нами в эксперименте на модельной системе *in vitro*. Обнаружено, что исследуемое средство обладает выраженной антирадикальной активностью в отношении связывания стабильного DPPH- радикала. Наибольший вклад в проявление данного вида активности вносят *I. helenium* и *C. spinosa*, которые характеризуются высоким содержанием флавоноидов (рутина и нарциссина), а также фенилпропаноидов. Наиболее выраженная антирадикальная активность, превосходящая препарат сравнения установлена в отношении супероксид-анион радикалов, обусловлена, очевидно, флавонолгликозидами, входящими в состав *C. spinosa*. Выраженная Fe^{2+} -хелатирующая активность, существенно превосходящая железосвязывающую активность у веществ сравнения гидрохинона и кверцетина обусловлена полисахаридами, в значительном количестве присутствующими в составе *Z. officinalis* и *E. cardamomum*.

В многочисленных исследованиях показано, что животные с пассивной и активной стратегией поведения в непривычных условиях, демонстрируют различные модели поведения, психической активности и устойчивости к стрессу (Судаков К.В., 2010). В ходе наших исследованиях было выявлено, что у активных животных, которые считаются устойчивыми к стрессу, на фоне хронического умеренного непредсказуемого стресса развивается типичная картина депрессии, про-

являющееся ангедонией, повышенной тревожностью, снижением двигательной активности, вегетативными расстройствами. В группе пассивных животных на фоне хронического стресса наблюдается резко выраженное увеличение двигательной активности, количество болюсов также повышается, что можно рассматривать как свидетельство выраженного психомоторного возбуждения, сопровождаемого вегетативными расстройствами, «неврастении», вызванного хроническим воздействием стрессоров и истощением центральных стресс-лимитирующих механизмов, что согласуется с данными о повышении двигательной активности стрессированных крыс Wistar в teste «открытого поля» над контрольным уровнем (Крупина Н.А., 2012). В teste принудительного плавания и МПХ отмечали увеличение времени иммобильности у крыс в контроле, причем более выраженные изменения наблюдались в группе пассивных животных, что свидетельствует о развитии у них более выраженного депрессивного состояния. Профилактическое курсовое введение комплексного растительного средства «тетрафитон» демонстрирует выраженное стресс-протективное действие на модели хронического не-предсказуемого стресса, препятствует развитию стрессиндуцируемой депрессии, что выражается в предотвращении развития ангедонии, снижении степени гипокортицизма и лимфатико-гипопластического диатеза. Следует отметить, что в группе активных животных «тетрафитон» проявляет анксиолитические свойства, уменьшает проявления тревоги, подавляет чувство боязни открытого пространства, стимулирует двигательную, поисково-исследовательскую деятельность, напротив в группе пассивных животных курсовое введение «тетрафитона» оказывает в большей степени транквилизирующее седативное действие, уменьшая проявления «nevрастенических» реакций и вегетативного дисбаланса на фоне хронического действия стрессоров. Различные эффекты тетрафитона на животных противоположного психотипа: психостимулирующий и антидепрессивный эффекты на животных с активной стратегией поведения, и анксиолитический и седативный эффект на пассивных животных, у которых на фоне ХУС развились

явления неврастении, также обусловлен многокомпонентностью средства, являющегося смесью биологически активных веществ. Так, его седативные свойства обусловлены, по-видимому, присутствием в его составе эфирных масел имбиря лекарственного, который широко применяется в традиционной медицине в качестве успокаивающего средства при нервном возбуждении, повышенной раздражительности и сердечно-сосудистых неврозах. Анксиолитический эффект имбиря, связан с антисеротонинергическим действием (Вальчихина О.Ю., 2015). В то же время, тонизирующий эффект тетрафитона обусловлен БАВ, присутствующими в побегах караганы остистой и плодах кардамона настоящего, обладающих в большей степени психостимулирующими свойствами. Необходимо подчеркнуть, что наличие у тетрафитона седативного действия не снижает параметры исследовательской деятельности животных опытной группы, показатели которой соответствуют показателям интактной группы животных.

Гипотрофия надпочечников в условиях хронического стресса, является следствием рассогласования гипotalamo-гипофизарно-надпочечникового взаимодействия, снижению ингибирования продукции АКТГ и КРГ и истощение коры надпочечников, о чем свидетельствует снижение секреции глюкокортикоидов. Курсовое введение испытуемого средства сопровождается повышением активности пучковой зоны коры надпочечников, что указывает на сохранение адекватного взаимодействия ядер гипоталамуса, adenогипофиза и коры надпочечников по принципу отрицательной обратной связи. Эффекты адаптогенов, таких как родиола розовая, элеутерококк связывают с присутствием в них фенольных соединений, фенилпропаноидов, таких как салидрозид, розавин, элеутерозид Е, шизандрин В, имеющих сходную химическую структуру с катехоламинами – медиаторами симпато-адреналовой системы, а также с тетрациклическими тритерпеноидами и фитостерол-гликозидами (элеутерозид А), имеющих структурное сходство с кортикоидами (Panossian, 2010). Аналогичным образом, можно предположить, что стресс-протективный эффект «тетрафитона» обусловлен присутствием в его со-

ставе фенилпропаноидов, фенилалканолов, моно- и сесквитерпеноидов, обеспечивающих ограничение гиперактивации стресс-реализующих систем: симпатоадреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой по принципу отрицательной обратной связи и препятствующий развитию стадии истощения в условиях хронического действия стрессоров.

Обнаружено, что на фоне курсового введения тетрафитона нивелируются метаболические стресс-индуцированные расстройства: нормализуется уровень глюкозы крови, липидный и белковый обмен животных. Можно предположить, что выявленный гипохолестеринемический эффект тетрафитона обусловлен присутствием в его составе 6-гингеролов, являющихся маркерными соединениями имбиря. Способность 6-гингеролов снижать уровень глюкозы и холестерина обнаружена в опытах на лабораторных животных, находящихся на избыточной жировой и углеводной диете (Nagashree, 2017). Механизм действия гингеролов и их метаболитов связан с серотониновыми рецепторами 5-HT3, расположенными в кишечнике (Вальчихина О.Ю., 2015). Кроме того, известно, что плоды кардамона предотвращают развитие метаболического синдрома, снижают артериальное давление, агрегацию тромбоцитов, нормализуют содержание глюкозы и холестерина в крови (Bhaswant, 2015).

В современных научных исследованиях цитокины часто рассматриваются в качестве биомаркеров депрессии. Показано, что курсовое введение «тетрафитона» на модели хронического умеренного стресса нормализует уровень γ -интерферона и фактора некроза опухоли – α до уровня интактных животных, что указывает о наличии у «тетрафитона» иммуномодулирующей активности на фоне иммунодепрессивного влияния хронического стресса.

Исследование иммуномодулирующих свойств «тетрафитона» выявило его эффективность по отношению к реакциям клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците, вызванном цитостатиком азатиоприном. Курсовое введение тетрафитона в услов-

но-терапевтической дозе нивелирует супрессорное действие азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителообразование и фагоцитарную активность макрофагов. В то же время, исследуемое средство не влияет на показатели иммунитета интактных животных. Полученные результаты подтверждают наличие иммуномодулирующих свойств у испытуемого средства, обладающего активностью только в условиях иммунодепрессии.

Известно, что адаптогенный эффект в наибольшей степени проявляется на фоне интенсивных нагрузок. Нами установлено, что курсовое введение «тетрафитона» в дозе 100 мг/кг повышает общую физическую выносливость животных в условиях запредельных физических нагрузок. Известно, что интенсивность и длительность мышечной работы лимитирована анатомо-функциональными возможностями системы кровообращения и дыхания, а также энергетическими возможностями скелетных мышц. Обнаружено, что повышение физической работоспособности на фоне курсового введения тетрафитона обусловлено увеличением мощности митохондриальной системы и повышением оксидативной способности скелетных мышц, о чем свидетельствует увеличение содержания АТФ в гомогенате скелетной мышцы. За счет повышения эффективности окислительного фосфорилирования в скелетных мышцах опытных животных, мышечные волокна переходят на более экономный режим функционирования, расход глюкозы снижается, о чем свидетельствует повышение содержания глюкозы крови. Снижение содержания триглицеридов в сыворотке крови и пирувата в скелетных мышцах животных опытной группы также указывает на рост способности скелетных мышц утилизировать жирные кислоты и пируват, тем самым уменьшая переход пирувата в лактат и критическое накопление последнего в мышечной ткани, играющего основную роль в генезе утомления и прекращении физической деятельности. Рост активности липопротеинлипаз в мышцах повышает доступность триглицеридов и способствует утилизации жирных кислот в мышцах, о чем свидетельствует снижение содержания триглицеридов в сыворотке крови животных

опытной группы. Более того, на фоне курсового введения «тетрафитона» повышается активность фермента ресинтеза гликогена гликогенсинтетазы и снижается интенсивность гликогенолиза, так как содержание гликогена в скелетных мышцах крыс опытной группы значительно превышает аналогичный показатель в контрольной группе. Выявлено, что на фоне курсового введения «тетрафитона» более выраженные изменения происходят в миокарде, которые приводят к значительному усилению мощности системы энергообеспечения сократительной функции сердца, что обеспечивает поддержание высокого минутного объема крови длительное время. Таким образом, повышение физической выносливости обусловлено увеличением эффективности системы энергообеспечения в скелетных мышцах и миокарде. Можно предположить, что данный эффект обусловлен присутствием в фитосредстве алантолактонов девясила высокого, в недавних исследованиях обнаружено, что алантолактон увеличивает транслокацию GLUT4 в клетках скелетной мышцы крысы, повышает проницаемость клеточной мембранны мышечных волокон для глюкозы, вызывает снижение глюкозы в крови и нормализацию индекса массы тела, показателей липидного обмена и толерантности к глюкозе. Кроме того, вызывает активацию митохондриальных ферментов в скелетной мышце (Arha D., 2018). Увеличение мощности митохондриальной системы способствует снижению степени активации СРО в скелетных мышцах и миокарде за счет уменьшения продукции в митохондриях радикальных форм кислорода. Кроме того, высокое содержание в «тетрафитоне» фенольных соединений, обладающих доказанным антиоксидантным действием обуславливают прямое ингибирование процессов СРО биомакромолекул в мышцах при экстремальных физических нагрузках. Существенным компонентом адаптогенного действия «тетрафитона» является повышение мощности системы антиоксидантных ферментов катализы, СОД и восстановленного глутатиона, что также способствует уменьшению активации СРО в мышцах при максимальных нагрузках. Активация данной стресс-лимитирующей системы на фоне курсового приема «тетрафитона», являет-

ся, по-видимому, одним из базисных механизмов, ограничивающих или предупреждающих повреждающее действие интенсивной физической нагрузки на уровне скелетных мышц и миокарда.

В связи с вышеизложенным можно полагать, что превентивное курсовое введение «тетрафитона» на модели интенсивной физической нагрузки повышает эффективность перераспределения энергетических ресурсов с избирательным направлением в органы и ткани, ответственные за выполнение физической нагрузки, увеличивает мощность и одновременно экономность функционирования двигательной системы и стимулирует формирование структурной основы долговременной адаптации к интенсивной физической нагрузке.

Кроме того, мы предполагаем, что повышение выживаемости животных опытной группы в условиях гемической, тканевой и гипоксической гипоксии с гиперкардией в эксперименте по сравнению с контрольной группой животных также обусловлено повышением эффективности деятельности систем энергообеспечения в скелетных мышцах и миокарде на фоне курсового введения испытуемого фитосредства. Выраженные антигипоксические свойства на различных моделях гипоксии ранее были обнаружены у химических соединений, выделенных из корневищ девясила высокого (Зеленская К.Л., 2010).

В следующей серии экспериментов обнаружено, что курсовое введение «тетрафитона» обладает выраженным анаболическим действием, стимулирует прирост массы тела неполовозрелых животных, преимущественно за счет увеличения массы скелетных мышц и миокарда. Рост мышечной массы осуществляется на основе активации синтеза нуклеиновых кислот РНК, ДНК и белков в скелетных мышцах и миокарде. Наряду с этим, у крыс опытной группы отмечается повышение содержания гликогена в печени, что указывает на усиление гликоген-синтезирующей функции печени и увеличение энергетического резерва организма под влиянием данного средства. Известно, что ведущую роль в регуляции метаболических процессов и в поддержания гомеостаза играют гормоны, в значитель-

ной степени определяя резистентность организма как в условиях покоя, так и при воздействии стрессоров. Основным стимулятором соматического роста, гипертрофии миокарда и других физиологических реакций в формировании структурного следа долговременной адаптации является соматотропный гормон. Нами установлено, что анаболическое действие «тетрафитона» опосредовано стимуляцией секреции СТГ. Кроме того, по данным литературы экстракт имбиря обладает андрогенным действием: в эксперименте на лабораторных крысах мужского пола наблюдалось значительное увеличение уровня секреции тестостерона, который, как известно, является анаболическим гормоном (Вальчина О.Ю., 2012). Одновременно, под влиянием «тетрафитона» происходят глубокие изменения липидного профиля. Так, в сыворотке крови опытной группы животных наблюдается достоверное понижение концентрации холестерина и липопротеинов низкой плотности, с одновременным повышением в плазме крови триглицеридов и липопротеинов высокой плотности, в результате индекс атерогенности значительно снижается.

Важное значение имеет выявленная нами анксиологическая активность «тетрафитона». Повышенная тревожность, с современной точки зрения рассматривается ни как результат дисфункции какой-либо одной нейромедиаторной системы, серотонинергической или дофаминергической, а как системный регуляторный дисбаланс различных нейромедиаторов на разных уровнях структурно-функциональной организации нервной системы. Т.о. тетрафитон, проявляя анксиолитические свойства нормализует баланс возбуждающих и тормозных влияний на уровне мотивационных структур ЦНС. Наличие выявленной психотропной активности связано, по-видимому, с присутствием в его составе широкого спектра фенольных соединений, поскольку известно, что фенольные соединения, обладают выраженным нейропротекторным действием (Albarracin S.L. et al., 2012). Кроме того, значимый вклад в нейропротекторную эффективность «тетрафитона» вносят алантолактон и изоалантолактон, в значительных количествах присутствуют в экстракте имбиря.

вующие в девясиле высоком. Показано, что они ингибируют цитотоксичность амилоида на корковых нейронах мыши и скополамин-индукционные когнитивные нарушения у мышей за счет снижения образования активных форм кислорода, в том числе супероксидного аниона, индуцированного амилоидом, стимулируя когнитивные функции (Seo, 2017).

Таким образом, курсовое введение «тетрафитона» в экспериментально-терапевтической дозе обладает выраженным стресс-протективным действием на моделях острого и хронического стресса. Стресс-протективный эффект «тетрафитона» носит системный характер и проявляется на всех уровнях регуляторных систем организма: уравновешивание процессов возбуждения и торможения в эмоциогенных лимбико-ретикулярных структурах ЦНС, что реализуется соответствующими изменениями поведенческих реакций; ограничение гиперактивации симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем, о чем свидетельствует слабая выраженность «триады Селье» при стрессорных воздействиях. На молекулярно-клеточном уровне стресс-протективное действие испытуемого средства обусловлено ингибированием процессов СРО биомакромолекул путем прямого антирадикального действия, активации ферментов антиокислительной защиты организма, восполнение пула структурных антиокислителей и уменьшение расхода эндогенных антиоксидантов при стресс-индуцированных состояниях.

Результаты проведенного нами исследования позволяют предположить, что четырехкомпонентное растительное средство «тетрафитон», являясь гармоничной смесью БАВ, обладает стресс-протективной активностью и на этапе срочной адаптации, как адаптогены преимущественно нейротропного действия и оптимизирует формирование долговременной адаптации в большей степени, чем применение отдельных компонентов этих смесей. Взаимодействие 4-х растений, различных химических веществ в определенном соотношении, обеспечили расширение спектра их адаптогенного действия и выраженную фармакотерапевтиче-

скую эффективность. Комплексное лекарственное средство, составленное на основе многовекового опыта традиционных медицинских систем оказывает многогранные системные действия, активируя фитогенетически заложенные механизмы адаптации, практически не оказывая нежелательных побочных реакций. В тибетской медицине многокомпонентные лекарственные препараты и оздоровительные средства рассматриваются как своеобразные регулирующие фитофармакологические системы, модулирующие естественные, эволюционно сложившиеся механизмы восстановления здоровья. Вектор действия всех наличествующих в них биологически активных веществ направлен на коррекцию функций по биологической лестнице управления жизненными процессами, в русле компенсации и адаптации организма (Николаев С.М., 2008).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многокомпонентное растительное средство «тетрафитон», при профилактическом курсовом введении в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг обладает широким спектром адаптогенной активности, повышает устойчивость лабораторных животных к острому иммобилизационному и хроническому эмоциональному стрессу, интенсивным физическим нагрузкам, гипоксическим состояниям различной природы. Выявлено, что под влиянием «тетрафитона» формируется состояние неспецифически повышенной сопротивляемости (СНПС) к действию повреждающих и стрессовых факторов различной природы. Профилактическое курсовое введение указанного средства ограничивает развитие стресс-индуцированного повреждения внутренних органов в условиях острого иммобилизационного стресса, демонстрирует выраженное стресс-протективное действие на модели хронического непредсказуемого стресса, препятствует развитию стрессиндуцируемой депрессии, что выражается в предотвращении развития ангедонии, снижении степени гипокортицизма и лимфатико-гипопластического диатеза. «Тетрафитон» стимулирует двигательную, поисково-исследовательскую деятельность оказывает анксиолитическое влияние, уменьшает проявления тревоги, подавляет чувство боязни открытого пространства, в группе животных с активной стратегией поведения, в группе пассивных животных курсовое введение «тетрафитона» оказывает в большей степени транквилизирующее седативное действие, уменьшая проявления «неврастенических» реакций и вегетативного дисбаланса на фоне хронического действия стрессоров. Профилактическое курсовое введение «тетрафитона» на модели интенсивной физической нагрузки повышает эффективность перераспределения энергетических ресурсов с избирательным направлением в органы и ткани, ответственные за выполнение физической нагрузки, увеличивает мощность и одновременно экономность функционирования двигательной системы и стимулирует формирование структурной основы долговременной адаптации к интенсивной физической нагрузке. Аналогичные

моррофункциональные эффекты «тетрафитона» способствуют выживанию животных в условиях острой гемической, гистотоксической и нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Обнаружено, что «тетрафитон» обладает анаболическим действием, стимулируя прирост массы скелетной мускулатуры и миокарда неполовозрелых животных. Установлено, что испытуемое средство обладает выраженным иммуномодулирующим действием, повышая активность клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальной азатиоприновой иммуносупрессии.

Механизмы действия «тетрафитона» реализуются на системном, клеточном и молекулярном уровнях организма. На системном уровне эффективность «тетрафитона» обусловлена гармонизацией процессов возбуждения и торможения в эмоциогенных лимбико-ретикулярных структурах ЦНС, ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем и стимуляции стресс-лимитирующих систем, что приводит к повышению эмоциональной стабильности, нормализации когнитивных процессов и повышении способности принятия адекватных решений, что реализуется в соответствующем изменении поведения. На клеточном уровне эффекты «тетрафитона» снижают интенсивность ответа на активацию центрального звена стресс-реакции, тем самым предупреждают развитие «триады Селье». На молекулярно-клеточном уровне стресс-протективное действие испытуемого средства обусловлено ингибированием процессов СРО биомакромолекул путем прямого антирадикального действия, активации ферментов антиокислительной защиты организма, восполнение пула структурных антиокислителей и уменьшение расхода эндогенных антиоксидантов при стресс-индуцированных состояниях. Комплекс различных БАВ представленных в полиэкстракте обеспечивает пролонгированное антирадикальное действие, характерное для сложных по составу природных экстрактов.

Четырехкомпонентное растительное средство «тетрафитон», являясь гармоничной смесью БАВ, обладает стресс-протективной активностью на этапе сроч-

ной адаптации и оптимизирует формирование долговременной адаптации в большей степени, чем применение отдельных компонентов.

Установленные адаптогенные свойства комплексного растительного средства «тетрафитон» обосновывают целесообразность его применения в качестве средства, повышающего неспецифическую сопротивляемость организма к различным факторам, экстремальным по силе и или продолжительности.

ВЫВОДЫ

1. комплексное растительное средство «тетрафитон» в экспериментально-терапевтических дозах (50 – 150 мг/кг) обладает психостимулирующим, анксиолитическим, актопротекторным, антигипоксическим, анаболическим, антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием;
2. курсовое введение «тетрафитона» оказывает выраженное стресс-протективное действие при остром и хроническом стрессе, ограничивая развитие стресс-индуцированных повреждений внутренних органов и «неврастических» реакций благодаря ограничению гиперактивации стресс-реализующих систем организма;
3. испытуемое фитосредство оказывает иммуномодулирующее действие, повышая активность гуморального и клеточного звена иммунной системы при азатиоприновой иммуносупрессии;
4. механизмы адаптогенного действия «тетрафитона» обусловлены ингибированием процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, стабилизацией мембранных структур клеток, оптимизацией энергетического баланса, активацией синтеза структурных и функциональных белков, что обеспечивает формирование долговременной адаптации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Выраженные адаптогенные свойства комплексного растительного средства экстракта сухого «Тетрафитон» аргументируют целесообразность разработки на его основе и последующего внедрения в клиническую практику нового фармакологического средства с адаптогенной активностью, предназначенного для повышения работоспособности, выносливости, предупреждения утомления для лиц, занятых в производстве с вредными условиями труда, при повышенных физических и психоэмоциональных нагрузках, для реабилитации после перенесенных тяжелых заболеваний, при астении, а также для использования в тренировочном периоде для спортсменов.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ – адренокортикотропный гормон;

АОК – антителообразующие клетки;

АОС – антиоксидантная система;

АТФ – аденоинтрифосфат;

ВГ – восстановленный глутатион;

ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

ИП – индекс Паулса;

КФК – креатинфосфокиназа;

ЛДГ – лактатдегидрогеназа;

ЛПВП – липопroteины высокой плотности;

ЛПНП – липопroteины низкой плотности;

МДА – малоновый диальдегид;

МК – молочная кислота;

ПВК – пировиноградная кислота;

ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт;

РНК – рибонуклеиновая кислота;

СОД – супероксиддисмутаза;

СРО – свободнорадикальное окисление;

ТГ – триглицериды;

ЦНС – центральная нервная система;

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алейникова Т.А. Количественное определение макроэргических соединений мышц (АТФ, креатинфосфата) / Т.А. Алейникова, Г.В. Рубцова // Руководство к практическим занятиям по биологической химии. – 1988. – С. 115-117.
2. Александровский Ю.А. Психофармакотерапия пограничных психических расстройств / Ю.А. Александровский, А.С. Аведисова, Л.М. Берденштейн // М., 2005. – 250 с.
3. Алинкина Е.С. Сравнение антирадикальной активности ионола, компонентов свежего имбиря и его экстрактов/Е.С. Алинкина, Т.А. Мишарина, Л.Д. Фаткуллина, Е.Б. Бурлакова//Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – т.48. - №5. – С.564-569.
4. Анохин П.К. Эмоции и эмоциональные расстройства. – М., 1966
5. Аниховская И.А. Психоэмоциональный стресс как клиническая модель начальной фазы общего адаптационного синдрома / И.А. Аниховская, В.Г. Двоеносов, Р.И. Жданов, А.А. Кубатиев, И.А. Майский, М.М. Маркелова, М.В. Мешков, О.Н. Опарина, И.М. Салахов, М.Ю. Яковлев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2015. – Т. 59, №4. – С.87-93.
6. Арушанян Э.Б. Препараты корня женьшеня и других растительных адапто-генов как ноотропные средства / Э.Б. Арушанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, №6. – С.58-66.
7. Базарон Э.Г. "Вайдурья - онбо" - трактат индо-тибетской медицины/ Э.Г. Базарон, Т.А. Асеева // - Новосибирск: Наука. - 1984. - 116 с.
8. Барабой В.А. Биологическое действие растительных полифенольных соединений / В.А. Барабой // – Киев, 1997. – 59 с.
9. Барабой В.А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И.И. Брехман, В.Г. Голотин, Ю.Б. Кудряшов // СПб.: Наука. – 1992. – 148 с.

10. Барнаулов О. Д. Стress-лимитирующие свойства классических фитоадапто-генов / О.Д. Барнаулов, Т.В. Осипова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10, №3. – С. 40 – 49.
11. Барнаулов О.Д., Сравнительная оценка вазо- и гепатопротективных свойств галеновых препаратов 16 видов Caragana Lam/ О.Д. Барнаулов Г.А Белодубровская//Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. -2018. - Том 16. - № 3. –С.60-67. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF16360-67>
12. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький //Л.: Медицина. – 1963. – 150 с.
13. Белякова Е.И. Изменение содержания серотонина в различных отделах мозга крыс при однократном и пролонгированном ноцицептивном воздействии / Е.И. Белякова // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 7. – С. 99.
14. Беспалов В.Г. Подавление роста экспериментально индуцированных опухолей нервной системы с помощью препаратов из Eleutherococcus senticosus (Rupr. et Maxim.) Maxim., Rhaponticum carthamoides (Willd.) Iljin и Plantago major L / В.Г. Беспалов // Раст. ресурсы. – 1992. – Т.28, Вып.4. – С. 70 – 73.
15. Бrehman И.И. Антирадиомиметическое действие некоторых природных соединений. I. Суммарные препараты и индивидуальные гликозиды корня женьшения / И.И. Бrehман, В.А. Гоненко // Радиобиология. – 1968. – №4. – С. 613.
16. Бrehman И.И. Использование филогенетической системы растений в поисках новых фармакологически активных веществ / И.И. Бrehман // Изучение и использование лекарственных ресурсов СССР. – М.: Медицина. – 1964.
17. Бrehman И.И. Элеутерококк / И.И. Бrehман // Л.: Наука. – 1986. — 156 с.
18. Буданцев А.Л. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская и соавт. // С-Петербург – 2001. – С. 123.
19. Бунева В.Н. Каталитически активные иммуноглобулины как специфические антиоксиданты крови человека при окислительном стрессе / В.Н. Бунева, Е.А. Блинова, Г.А. Невинский // Цитокины и воспаление. – 2010. – Т.9, №4. – С. 67-69.

20. Бурлакова Е.Б. Биоантиоксиданты / Е.Б. Бурлакова // Российский химический журнал. – 2007. – Т. 2, № 1. – С. 3 – 12.
21. Вальчихина О.Ю. Корневище имбиря как перспективное растительное сырье для создания лекарственных средств/О.Ю. Вальчихина, Н.Б. Демина, А.Надер//Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. - №4 (13). – С.82-90
22. Воробьева О.В. Применение комбинированных растительных препаратов при тревожных расстройствах / О.В. Воробьева, Е.С. Акарачкова // Фарматека. – 2007. – № 7. – С. 47–50.
23. Воронина Т.А Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия / Т.А. Воронина, Р.У. Островская, Т.Л. Гаривова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012. С. 285
24. Воронина Т.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств /Т.А. Воронина, С.Б. Середин, М.А. Яровая, М.В. Воронин //Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012. С. 264 – 276.
25. Воронина Т.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению противосудорожной активности лекарственных средств /Т.А. Воронина, Л.Н. Неробкова //Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012. С. 239.
26. Воронина Т.А. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Т.А. Воронина, Р.У. Островская // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2000. – С. 153 – 161.

27. Воронина Т.А. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ // Т.А. Воронина, С.Б. Середенина – М., 2005. – С. 253 – 263.
28. Габрук Н.Г. Инструментальные методы в исследовании компонентного состава биологически активных веществ имбиря (ZINGIBER OFFICINALE) / Н.Г. Габрук, Ле Van Тхуан // Естественные науки. 2010. № 3 (74).-78-82
29. Галушкина Л.Р., Галсанов Ш.Б. Изучение адаптогенной и резистогенной активности девясила и элеутерококка // 5-й Все-рос. съезд фармацевтов: Тез. докл. Ярославль - 1987. - С. 439-441.
30. Гаммерман А.Ф. Словарь тибетско-латино-русских названий лекарственно-го растительного сырья, применяемого в тибетской медицине / А.Ф. Гаммерман, Б.В. Семичев // Улан-Удэ, 1963. – 80 с.
31. Горькавая А.Ю Дифференцированное влияние экстракта элеутерококка на умственную работоспособность мужчин и женщин / А.Ю. Горькавая, Л.Д. Маркина, Ю.В. Стрелкова, С.М. Рыбалкина, О.И. Кириллов // Вестник дальневосточ-ного отделения Российской академии наук. – 2007. – № 6. – С. 73
32. Горькавая А.Ю. Влияние экстракта кукумарии японской на умственную ра-ботоспособность лиц молодого возраста / А.Ю. Горькавая, Т.Н. Слуцкая, О.И. Кириллов // В мире научных открытий. – 2012. – № 9.2 (33). – С. 125 – 140.
33. Дардыков И.В. Женьшень, элеутерококк (к механизму биологического дей-ствия) / И.В. Дардыков // М.: Наука, 1976. — 184 с.
34. Дёрффель К. Статистика в аналитической химии / К. Дёрффель // М.: Мир, 1994. – 265 с.
35. Должиков А.А. Стресс, кортикостероидные повреждения гиппокампа и нервно-психическая патология/А.А. Должиков, И.И. Бобынцев, А.Е. Белых, И.Н. Должикова//Человек и его здоровье. – 2017. - №2. – С.98-105

36. Дубинина Е.Е Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека. / Е.Е. Дубинина, Л.А. Сальникова, Л.Ф. Ефимова //Лабораторное дело. – 1983. - №10. – С.30-33.
37. Забродин О.Н. Концепция об адаптогенах в аспекте учения о нервной трофики / О.Н. Забродин, Н.В. Лазарева // Психофармакол. биол. наркол. — 2005. — Т. 5, № 4. — С. 1108–1112.
38. Зайков С.В. Синдром хронической усталости: клиника, диагностика, лечение /С.В. Зайков., А.Е. Богомолов, О.Б. Бондарчук// Новости медицины и фармации. – 2013. – № 16 (467). –С.12 – 15.
39. Зайцева Н.С. Механизмы прогрессирования стресс-индуцированной соматической патологии/Н.С. Зайцева//Улучшение качества первичной медицинской помощи через призму подготовки высокопрофессиональных врачебных кадров: акценты на профилактику, раннюю диагностику и рациональную лекарственную терапию. – 2016. – С.143-146.
40. Захра Дараб Выявление антимутагенного и антиканцерогенного действия экстрактов имбиря (*Zingiber officinale Roscoe*)/Захра Дараб, Х.Юлдошев, З.М.Хамрабаева//Доклады академии наук Республики Таджикистан. – 2014. – т.57. - №3. – С.246-250
41. Зеленская К.Л.Корrigирующее влияние препаратов девясила при различных экстремальных воздействиях / К.Л.Зеленская, Ю.В.Нестерова, Т.Н. Поветьева, С.Г.Аксименко. // Матер. 12-й Междунар. конф. молодых уч. – Спб. – 2010. - С.627
42. Зенков Н.К. Старение и воспаление / Н.К. Зенков, Е.Б. Меньшикова, В.А. Шкурупий // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 1. – С. 20 – 37.
43. Измайлова Д.Ю. Математическое моделирование кинетики цепного окисления липидов и хемилюминесценции в присутствии Fe²⁺, действие антиоксидантов /Д.Ю. Измайлова, Ю.А. Владимиров // Биологические мембранны: журнал мембранный и клеточной биологии. – 2003. – Т. 20, № 4. –С. 349 – 358.

44. Калуев А.В. Стress, тревожность и поведение. Актуальные проблемы моделирования тревожного поведения животного / А.В. Калуев // М., 1998. – 145 с.
45. Каркищенко В.Н. "Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов" / В.Н. Каркищенко, Г.Д. Капанадзе, С.Е. Деньгина, Н.В. Станкова // Биомедицина - 2011. - №1. - с. 72-74.
46. Кириллов О.И. Опыт фармакологической регуляции стресса / О.И. Кириллов // Владивосток: Приморское изд-во, 1966. – 105 с.
47. Кириченко Н.Н. Синдром хронической усталости: клиника, диагностика, лечение / Н.Н. Кириченко, М.П. Товбушенко, Н.А. Михеева, О.М. Товбушенко // Терапевт. – 2012. – № 1. – С. 29 – 31.
48. Киселёва Т.П. Общий адаптационный синдром / Т.П. Киселёва // Академический журнал Западной Сибири. – 2013. – Т. 9, № 5 (48). – С. 81 – 83.
49. Клебанов Г.И. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов / Г.И. Клебанов, М.В. Бабенкова, Ю.О. Теселкин // Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59–62.
50. Ковалев И.Е. Влияние эномеланина на гемолиз эритоцитов, вызываемый свободнорадикальными реакциями и другими факторами / И.Е. Ковалев, Н.П. Данилова, С.А. Андronати, Ю.Л. Жеребин // Фармакол. и токсикол. – 1986. – № 4. – С. 89–91.
51. Колб В.Г. Клиническая биохимия. / В.Г. Колб, В.С. Камышников // Минск. – 1976. – 231 с.
52. Копнин А.А. Современное состояние исследований в области применения адаптогенных препаратов: научный обзор / А.А. Копнин, Т.Д. Даргаева, Т.А. Сокольская, Т.В. Лукашина, М.Н. Лякина // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – № 2. – С. 12 – 16.
53. Королюк М.А. Методы определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова // Лабор. дело. – 1988. – № 1. – С. 16 – 19.

54. Кост Н.В. Нейропептиды в регуляции тревоги / Н.В. Кост, В.К. Мешавкин, А.А. Зозуля // Психиатрия. – 2010. – № 4 (46). – С. 64 – 75.
55. Краснов Е.А. Химический состав некоторых перспективных видов флоры Сибири и возможности их практического использования / Е.А. Краснов, Я.В. Горина, И.П. Каминский, Т.В. Кадырова // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: Сб. науч. тр. – Барнаул: Изд–во Алт. ун – та, 2009. – 293 с.
56. Крупина Н.А., Богданова Н.Г, Хлебникова Н.Н., Золотов Н.Н., Крыжановский Г.Н. Влияние ингибитора пролилэндопептидазы бензилоксикарбонил-метионил-2(s)- цианопирроли-дина на депрессивно-подобное поведение крыс в тесте принудительного плавания и активность пролинспецифических пептидаз в структурах мозга // Бюл. экспер. биол. 2012. Т. 154, №11. С. 559-563. Переводной вариант: DOI: 10.1007/s10517-013-2010-y
57. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляционная патология. — М.: РИТ-ЭКСПРЕСС, 2002.
58. Крыжановский Г.Н. Общая дизрегуляционная патология нервной системы. Дизрегуляционная патология нервной системы / Крыжановский Г.Н., Магаева С. В. / Под ред. Е.И. Гусева, Н.Н. Крыжановского. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2009. — С. 19—194.
59. Лазарев Н.В. Состояние неспецифически повышенной сопротивляемости / Н.В. Лазарев, Е.И. Люблина, М.А. Розин // Пат. физiol. и эксперим. терапия. – 1959. – Т. 3, Вып. 4. – С. 16 – 21.
60. Лазарев Н.В. Эволюция фармакологии. / Н.В. Лазарев // Л.: ВММА, 1947. 276 с.
61. Лазарева Л.Н. Стимуляторы иммунитета / Л.Н. Лазарева, Е.К. Алехин // М., 1985. – 255 с.

62. Лесиовская Е.Е. Препараты тонизирующего действия на фармацевтическом рынке Северо–Запада / Е.Е. Лесиовская, Е.В. Коноплева // Ремедиум. – 2002. – № 1 – 2. – С. 49 – 53.
63. Лишманов Ю.Б. β-эндорфин и стресс-гормоны плазмы крови при состояниях напряжения и адаптации / Ю.Б. Лишманов, Ж.В. Трифонова, А.Н. Цибин // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1987. – № 4. – С. 422 – 424.
64. Лубсандоржиева П.- Н. Б. Разработка и стандартизация фитосредств для лечения и профилактики заболеваний органов пищеварения/ П.- Н. Б. Лубсандоржиева /Улан-удэ: Изд-во БНЦ СО РАН. - 2016. - 280 С.
65. Лукьянова Л.Д. Методические рекомендации по скринингу и доклиническому испытанию антигипоксических средств / Л.Д. Лукьянова // М., 1989. – 12 с.
66. Лыско А.И. Каталитические антиоксиданты: потенциальные терапевтические средства для коррекции патологий, вызываемых оксидативным стрессом / А.И. Лыско, А.М. Дудченко // Патогенез. – 2013. – Т. 11, № 3. – С. 22 – 28.
67. Максименко А. В. Ферментные антиоксиданты – следующий этап фармакологического противостояния окислительному стрессу / А.В. Максименко, А.В. Ваваев // Молекулярная медицина. – 2010. – № 2. – С. 9 – 14.
68. Малышев И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Биохимия. – 1998. – № 63 (7). – С. 992 – 1006.
69. Мартинович Г.Г. Окислительно-восстановительные процессы в клетках / Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // Минск. – БГУ. – 2008. – С. 159.
70. Маслова М.Н. Молекулярные механизмы стресса / М.Н. Маслова // Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. – 2005. – Том 91, № 11. – С. 132 – 138.
71. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы организма / Ф.З. Меерсон // Физиология адаптационных процессов: Руководство по физиологии. – М.: Наука, 1986. – С. 521 – 621.

72. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшениникова // М.: Медицина. – 1988. – 256 с.
73. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон // М.: Медицина. – 1984. – 270 с.
74. Меерсон Ф.З. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца / Ф.З. Меерсон, И.Ю. Малышев // М.: Медицина. – 1988. – 253 с.
75. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь, Н.Ф. Круговых, В.А. Труфакин // М.: Фирма "Слово". – 2006. – 556 с.
76. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, И. А. Бондарь, В. А. Труфакин // Новосибирск: АРТА – 2008. – 284 с.
77. Механизм синергетического действия смесей ингибиторов в процессах окисления [Текст] / Н. М. Эмануэль, З. К. Майзус, Г. В. Карпухина, М. Я. Мескина. - Москва : [б. и.], 1973. - 38 с. : ил.; 21 см. - (Доклад/ Междунар. симпозиум по методам оценки и практ. применению стабилизаторов и синерг. смесей).
78. Миширина Т.А. Оценка антирадикальных свойств корня имбиря/Т.А. Миширина, Е.С. Алинкина, Л.Д. Фаткуллина//Химия растительного сырья. – 2013. - №1. – С.183-189
79. Молоковский Д.С. Патогенетические основы применения адаптогенных фитопрепаратов и их биологическая активность при различных патологических состояниях / Д.С. Молоковский // Автореф. дис. ... докт. мед. Наук. – СПб., 2004. – 34 с.
80. Нестерова Ю.В. Некоторые механизмы стресс-протективного действия вытяжек из девясила высокого/автореф. дис...к.м.н., Томск.- 2003
81. Николаев С.М. Фитофармакотерапия и фитофармакопрофилактика заболеваний. / С.М. Николаев // Улан-удэ: Издательство Бурятского госуниверситета - 2012. - 286с.

82. Николаев С.М. Свободнорадикальное окисление и скрининг антиоксидантов, адаптогенов с использованием биотест-систем / С.М. Николаев, Л.Н. Шантанова, А.Г. Мондодоев, А.О. Занданов, С.В. Лемза, С.А. Чукаев // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра сибирского отделения российской академии медицинских наук. – 2010. – № 2. – С. 196 – 200.
83. Николаев С.М Перспективы применения многокомпонентных препаратов в фармакотерапии заболеваний/С.М.Николаев, Л.Н. Шантанова,Н.Б. Болданова, Э.А.Алексеева, И.П. Убеева, К.Ж. Маланов//Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2013. - №2. – С.21-25
84. Овсянников В.И. Механизмы реализации патогенного потенциала стресса /В.И. Овсянников // Медицинский академический журнал - 2010. - том 10. - № 4.
85. Огурцов С.И. Митохондриальная и ядерная глюкокортикоид-чувствительные протеазы тимоцитов / С.И. Огурцов, А.С. Духанин, А.А. Темнов // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – Т. 132, № 7. – С. 23 – 25.
86. Оленников Д.Н. Химический состав сока каллизии душистой (*Callisia fragranswood*) и его антиоксидантная активность (*in vitro*) / Д.Н. Оленников, И.Н. Зилфикаров, А.А. Торопова, Т.А. Ибрагимов // Химия растительного сырья. – 2008. – № 4. – С. 95 – 100.
87. Островская Р.У. Методические рекомендации по изучению нейролептической активности лекарственных средств /Р.У. Островская, К.С. Раевский, Т.А. Воронина, Т.Л. Гарибова, Г.И. Ковалев, В.С. Кудрин, В.Б Наркевич, П.М. Клодт // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012. С. 256 – 258.
88. Перцов С.С. Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса/С.С. Перцов//М.: Издательство РАМН. – 2011.
89. Плотников М.Б. Гемореологическая активность экстрактов из надземной части *Lychnes chalcedonica* L., *Rhaponticum carthamoides* (Willd.) Iljin при экспе-

- риментальном инфаркте миокарда // М.Б. Плотников // Раст. ресурсы. – 1999. – Т. 59, вып. 1. – С. 103 – 107.
90. Порядин Г.В. Стress и патология / Г.В. Порядин // М.: РГМУ. – 2009. – 23 с.
91. Постнова М.В. Морфофункциональные особенности ядер переднего гипоталамуса в обеспечении стресс-реактивности организма / М.В. Постнова, В.В. Новочадов, М.Б. Потанин // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10 – 2. – С. 366 – 370.
92. Пшениникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшениникова // Патологич. физиол. и эксп. терапия. – 2001. – № 2. – С. 26 – 30.
93. Пшениникова М.Г. Синтез белков теплового шока (hsp70) в лейкоцитах крови как показатель устойчивости к стрессорным повреждениям / М.Г. Пшениникова, О.М. Зеленина, С.В. Круглое, Д.А. Покидышев, М.В. Шимкович, И.Ю. Малышев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 142, № 12. – С. 614 – 617.
94. Ромасенко Л.В. Терапия расстройств тревожно–депрессивного спектра у пациентов с артериальной гипертензией / Л.В. Ромасенко, И.М. Пархоменко, Е.Б. Кадушина // Фарматека. – 2012. – № 19. – С. 32 – 35.
95. Росин Е.А. Регуляция функций. М., 1984.- 172 с.
96. Салехов С.А. Роль психологического стресса в формировании психосоматической патологии/С.А. Салехов, Е.Г. Гордеева, В.И. Есаулов, М.Н. Гордеев, И.А. Корабельникова//On line scientific @educational Bulletin "Health and Education Millennium" – 2016. – Vol. 18. -№2. – P.13-19.
97. Сафонова Г.М. Протективные эффекты растительных полифенольных соединений на иммунную систему при остром стрессе / Г.М. Сафонова, Ю.И. Шилов, А.Б. Перевозчиков // Доклады академии наук. – 2001. – Т. 378, № 5. – С. 697 – 699.

98. Свердлов Е.Д. Биологический редукционизм и медицина XXI века/Е.Д. Свердлов//Петологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2010.-№3. – С.3-23
99. Сейфулла Р.Д. Лекарства и БАД в спорте: Практическое руководство для спортивных врачей, тренеров и спортсменов / Р.Д. Сейфулла, З.Г. Орджоникидзе, Г.З. Орджоникидзе // М., Литтера. – 2003. – С. 320.
100. Сейфулла Р.Д. Научно-методические рекомендации о применении новых комбинированных адаптогенов растительного происхождения в спортивной медицине / Р.Д. Сейфулла // Методические рекомендации. – М.: ВНИИФК, 1998. – С. 28.
101. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье // М.: Мед-гиз., 1960. – 255 с.
102. Селье Г. Стресс без дистресса/Г. Селье. – Рига: Виеда, 1992. – С.69
103. Сергиенко В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева //М.: 2000. – 263 с.
104. Слепухин В.Д. Роли нейропептидов в механизме развития стресса и шока / В.Д. Слепухин, Г.К. Золоторев // Механизмы патологических реакций. – Томск, 1986. – Т. 4. – С. 86 – 90.
105. Соколов П.Д. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование Сем. Asteraceae / П.Д. Соколов // СПб.: Наука, 1993. – Т. 7. – 352 с.
106. Соколова Е.Д. Эмоциональный стресс: психологические механизмы, клинические проявления, психотерапия/Е.Д. Соколова, Ф.Б. Березин, Т.В. Барлас//MateriaMedica. – 1996. – №1(9). – С.5-25
107. Страчунский Л.С. Глюкокортикоидные препараты / Л.С. Страчунский, С.Н. Козлов // Смоленская ГМА, 1997. – С. 3.
108. Студенцов Е.П. Адаптогены и родственные группы лекарственных препаратов – 50 лет поисков / Е.П. Студенцов, С.М. Рамш, Н.Г. Казурова, О.В. Непорож-

- нева, А.В. Гарабаджиу, Т.А. Кочина, М.Г. Воронков, В.А. Кузнецов, Д.В. Криворотов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2013. – Т. 1, № 4. – С. 3 – 43.
109. Судаков К.В. Системные основы эмоционального стресса/К.В. Судаков, П.Е. Умрюхин// М: Гэотар – Медиа – 2010.-112с.
110. Сумати Праждня, Кунпан-Дудзи, Большой рецептурный справочник Агинского дацана (пер. с тибет. яз. Д.Б. Дашиева), Москва (2008).
111. Сумбаев В.В. Активность протеинкиназы, регулирующей апоптогенный сигнал 1, поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы и межнуклеосомная фрагментация ДНК в печени крыс в условиях оксидативного стресса, вызванного хлоридом кобальта / В.В. Сумбаев // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 2. – С. 148 – 149.
112. Сур С.В. Проблемы и перспективы разработки и внедрения современных лекарственных средств растительного происхождения / С.В. Сур, Э.Н. Гриценко // Фарматека. – 2001. – № 9. – С. 10 – 14.
113. Сыров В.Н. Антиоксидантная активность некоторых растительных фенольных соединений / В.Н. Сыров, З.А. Хушбактова, В.М. Гукасов // Хим. фарм. журн. – 1987. – Т. XXI. № 1. – С. 59 – 62.
114. Телятьев В.В. Полезные растения центральной Сибири / В.В. Телятьев // Иркутск, 1985. – С 250.
115. Темирбулатов Р.А. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / Р.А. Темирбулатов, Е.И. Селезнев // Лабор. Дело. – 1981. – № 4. – С. 209 – 211.
116. Теселкин Ю.О. Взаимодействие дигидрокверцетина с ионами двухвалентного железа / Ю.О. Теселкин, И.В. Бабенкова, И.А. Руленко // Биоантиоксидант. – Тюмень, 1997. – С. 22 – 24.

117. Тодоров И.Н. Стресс, старение и их биохимическая коррекция / И.Н. Тодоров, Г.И. Тодоров // М.: Наука, 2003. – С. 425 – 446.
118. Торгашов М.Н. Некоторые патогенетические механизмы развития стресс-индуцированной патологии / М.Н. Торгашов, В.С. Мякотных // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2016. - №2
119. Трудолюбова М. Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных / М. Г. Трудолюбова //Современные методы в биохимии под ред. проф. Ореховича В.Н. М.: Медицина. – 1977. – 392 с.
120. Фесенко Ю.А. Стресс и его роль в патофизиологии неврозов / Ю.А. Фесенко, Л.П. Чурилов, Ю.И. Строев // Вопросы психического здоровья детей и подростков. – 2014. – № 1 (14). – С. 5 – 14.
121. Хайтов Р.М. Методические рекомендации по доклиническому изучению иммунотропной активности лекарственных средств / Р.М. Хайтов, И.Г. Гущин, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин, А.Н. Миронов, В.А., Меркулов, Е.В. Кожинова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012. – С. 630 – 631.
122. Хайтов Р.М. Методические рекомендации по оценке иммунотоксического действия лекарственных средств / Р.М. Хайтов, А.С. Иванова, Л.П. Коваленко, А.Д. Дурнев, А.Н. Миронов, Е.В. Арзамасцев, Т.Б. Мастернак, О.Н. Стеценко, Р.И. Атауллаханов, Т.А. Гуськова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств часть первая под ред. Миронова А. Н. Москва. – 2012. – С. 73.
123. Харборн Д. Введение в экологическую биохимию / Д. Харборн // М., 1985. – 176 с.
124. Хныченко Л.К. Стресс и его роль в развитии патологических процессов / Л.К. Хныченко, В.С. Мякотных // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии - 2003. - том 2 - №3.

125. Цырлина Е.В. Влияние химиотерапевтических препаратов в сочетании с экстрактом из элеутерококка колючего на возникновение и развитие метастазов опухоли ССК / Е.В. Цырлина // Вопр. онкол. – 1965. – Т. 11, № 10. – С. 70 – 77.
126. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабор. дело. – 1985. – № 11. – С. 678 – 681.
127. Чеснокова Н.П. Инфекционный процесс / Н.П. Чеснокова, А.В. Михайлов, В.В. Моррисон, Г.Е. Брилль // Изд-во Академия естествознания, М., 2006. – 484 с.
128. Чжуд-ши: Канон тибетской медицины/пер. Дашиева Д.Б., 2001. - 766с
129. Шел Пхренг. Ожерелье чистого хрусталя / Перевод и примечания Д.Б. Дашиева. - М., 2017. - 494 с. [Shel Pkhreng. Ozherel'ye chistogo khrustalya. Ed and transl by D.B. Dashiev. Moscow; 2017. 494 p. (In Russ.)]
130. Шилова И.В. Рациональные подходы к поиску и созданию ноотропных средств растительного происхождения / И.В. Шилова // Вестн. РУДН. Сер. Медицина. – 2007. – № 6. – С. 236 – 240.
131. Шилова И.В. Исследования по разработке ноотропных средств на основе растений Сибири / И.В. Шилова, Н.И. Суслов // Здоровье и образование в XXI веке. Инновационные технологии в биологии и медицине: Сб. науч. тр. X Междунар. конгр. – Москва, 2009. – С 475 – 477.
132. Щепочкина О.Ю. Определение биологически активных веществ в сухом экстракте имбиря лекарственного/О.Ю. Щепочкина, Н.Б. Демина, А.А. Жогова, М.Н. Анурова, О.Ю. Вальчихина, А. Надер//Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. - №11(11). – С.160-166.
133. Эверли Дж.С. Стресс: природа и лечение / Дж.С. Эверли, Р. Розенфельд // М.: Медицина, 1985. – 200 с.
134. Юматов Е.А. Сравнительный анализ устойчивости функций сердечно-сосудистой системы у крыс разных линий при иммобилизации / Е.А. Юматов, Ю.Г. Скоцеляс // Журн. высшей нервн. деят. – 1979. – № 2. – С. 345 – 350.

135. Яременко К.В. Адаптогены как средства профилактической медицины / К.В. Яременко // Томск: изд-во Томск. Ун-та, 1990. – 94 с.
136. Яременко К.В. Злокачественные опухоли. Лечение и лекарственная профилактика / К.В. Яременко, В.Г. Пашинский // СПб.: Элби СПб, 2003. – 168 с.
137. Abdullah. Evaluating the antimicrobial potential of green cardamom essential oil focusing on quorum sensing inhibition of Chromobacterium violaceum/ Abdullah, A. Asghar, M.S. Butt et al.// Journal of food science and technology - mysore - 2017. - Vol. 54. - № 8. - P. 2306-2315.
138. Abu-Taweel. Cardamom (*Elettaria cardamomum*) perinatal exposure effects on the development, behavior and biochemical parameters in mice offspring / Abu-Taweel, M. Gasem // Saudi journal of biological sciences - 2018. - Vol. 25. - № 1. - P. 186-193.
139. Abdu S.B. Ginger nanoparticles modulate the apoptotic activity in male rats exposed to dioxin-induced cancer initiation / SB. Abdu, F. Abdu, WKB. Khalil // International journal of pharmacology - 2017. - Vol. 13. - № 8. - P. 946-957.
140. Afsheen Nadia. Cardioprotective and Metabolomic Profiling of Selected Medicinal Plants against Oxidative Stress/ N. Afsheen, Khalil-ur-Rehman, N. Jahan, M. Ijaz, A. Manzoor, K.M. Khan, S. Hina// Oxidative medicine and cellular longevity - 2018. - № 9819360 - DOI: 10.1155/2018/9819360.
141. Akar F.G. The mitochondrial origin of postischemic arrhythmias. / F.G. Akar, M.A. Aon, G.F. Tomaselli, B. O'Rourke // Journal of Clinical Investigations. – 2005. – Vol. 115. – P. 3527–3535.
142. Allbaracin S.L. Effects of natural antioxidants in neurodegenerative disease. / S.L. Allbaracin, B. Stab, Z. Casas, J.J. Sutachan, I. Samudio et al // Nutritional neuroscience - 2012. - Vol. 15 - № 1.
143. Anderson R.L. Nonoleguric acute renal failure / R.L. Anderson, S.L. Linas, A.S. Berns // N. Engl. J. Med. – 1977. – Vol. 236. – P. 1134
144. Arha Deepti. Isoalantolactone derivative promotes glucose utilization in skeletal muscle cells and increases energy expenditure in db/db mice via activating AMPK-

- dependent signaling/ D. Arha, Ramakrishna, E.; A. Gupta et al./Molecular and cellular endocrinology - 2018.- VOL.460. - № C. - P. 134-151.
145. Asea A. Evaluation of molecular chaperones Hsp 72 and neuropeptide Y as characteristic markers of adaptogenic activity of plant extracts // A. Asea, P. Kaur, A. Panossian, K.G. Wikman // Phytomed. – 2013. – Vol. 20. – P. 1323-1329.
146. Aubry AV. A diet enriched with curcumin promotes resilience to chronic social defeat stress/ AV. Aubry, H. Khandaker et al./ Neuropsychopharmacology - 2019. - Vol. 44. - №4. - P. 733-742.
147. Balaji S. Anti-bacterial Effect of Essential Oils Extracted from Selected Spices of Zingiberaceae/S. Balaji, B. Chempakam// Natural products journal - 2018 - VOL. 8. - № 1.- P. 70-76
148. Bauersachs J. Cytochrome p450 2c expression and EDHF-mediated relaxation in porcine coronary arteries is increased by cortisol / J. Bauersachs, M. Christ, G. Ertl, U.R. Michaelis, B. Fisslthaler, R. Busse, I. Fleming // Cardiovascular research.- 2002 – Vol. 54 №3. – P. 669.
149. Bergh, C. Stress resilience and physical fitness in adolescence and risk of coronary heart disease in middle age /Heart. - 2015. - Vol. 101. - № 8. - P. 623-629.
150. Bhat GMN. Comparison of the efficacy of cardamom (*Elettaria cardamomum*) with pioglitazone on dexamethasone-induced hepatic steatosis, dyslipidemia, and hyperglycemia in albino rats/GMN.Bhat, N. Nayak, K.Vinodraj, N. Chandrakha, P. Mathai, J. Cherian// Journal of advanced pharmaceutical technology & Research - 2015. - Vol. 6. - № 3.- P. 136-140. - DOI: 10.4103/2231-4040.157981.
151. Bhaswant Maharshi. Green and Black Cardamom in a Diet-Induced Rat Model of Metabolic Syndrome/ M. Bhaswant, H. Poudyal, M. Mathai et al./ Nutrients - 2015. -Vol. 7. - № 9. - P. 7691-7707.
152. Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding / Anal. Biochem. 1976. — Vol. 72. — P. 248-254.

153. Brekhman I.I. The mechanism of action of ginseng and eleutherococcus preparations / I.I. Brekhman, I.V. Dardimov //Intern/ Symp. On traditional medicine and modern pharmacology: Abstracts Beijing – 1986. – P. 40
154. Bremner J.D., Kristal J.H., Southwick S.M., Charney D.S. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: preclinical studies // Synapse. 1996. -Vol. 23. - N1.-P. 28-38.
155. Cai Hong. Costunolide promotes imatinib-induced apoptosis in chronic myeloid leukemia cells via the Bcr/Abl-Stat5 pathway/ H. Cai, X. He, Ch. Yang/ Phitotherapy research -2018.- VOL. 32.-№ 9.-P.1764-1769.
156. Chen A.-S. Antioxidant activities of chitibiose and chititriose / A.-S. Chen, T. Taguchi, K. Sakai, K. Kikuchi, M.-W. Wang, I. Miwa // Biol. Pharm. Bull. – 2003. – Vol. 26 (9). – P.1326-1330.
157. Chiu P.Y Chronic Schisandrin B treatment improves mitochondrial antioxidant status and tissue heat shock protein production in various tissues of young adult and middle-aged rats /Chiu P.Y., Leung H.Y., Poon M.K., Ko K.M. // Biogerontology 2006. – Vol. 7 №4. – P. 199-210
158. Cui Li. Apoptosis induction by alantolactone in breast cancer MDA-MB-231 cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrion-dependent pathway/L. Cui, W. Bu, J. Song et al.//Archives of farmacal research - 2018. - VOL. 41. - № 3.- P. 299-313
159. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells / A.J. Cunningham // Nature. – 1965. – Vol. 207. – N 5001. – P. 1106–1107.
160. Daneshi-Maskooni Milad. Green cardamom increases Sirtuin-1 and reduces inflammation in overweight or obese patients with non-alcoholic fatty liver disease: a double-blind randomized placebo-controlled clinical trial/ M. Daneshi-Maskooni, S.A. Keshavarz, M. Qorbani, et al.//Nutrition & Metabolism - 2018. - Vol. 15. - № 63.

161. Daneshi-Maskooni. The effects of green cardamom on blood glucose indices, lipids, inflammatory factors, paraxonase-1, sirtuin-1, and irisin in patients with nonalcoholic fatty liver disease and obesity: study protocol for a randomized controlled trial/ M. Daneshi-Maskooni, S.A. Keshavarz, S. Mansouri et al// Trials - 2017. - Vol. 18. - № 260.
162. Elguindy Nihal M. Chemoprotective Effect of *Elettaria Cardamomum* against Chemically induced Hepatocellular Carcinoma in Rats by Inhibiting NF-kappa B, Oxidative Stress, and Activity of Ornithine Decarboxylase/ N.M. Elguindy, G.A. Yacout, E. F. El Azab, et al// South African journal of botany - 2016. - Vol. 105. - P. 251-258.
163. Ezzat,Shahira The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale*) potent in vivo and in vitro anti-inflammatory activity/ Ezzat,Shahira M.,Ezzat,Marwa//J. of Ethnopharmacology. – 2018. – V.214. – P. 113-123
164. Esterbauer H. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL /H. Esterbauer, J. Gebicki, H. Puhl, G. Jurgens // Free Radic. Biol. Med. -1992. – Vol. 13. – P.341-390
165. Fatemeh Yaghooblou. The effect of cardamom supplementation on serum lipids, glycemic indices and blood pressure in overweight and obese pre-diabetic women: a randomized controlled trial/ Y. Fatemeh, F. Siassi, A. Rahimi et al// Journal of diabetes and metabolic disorders - 2017. - Vol. 16. - № 40.
166. Fontes M.P. Emotional stress and sympathetic activity: contribution of dorsomedial hypothalamus to cardiac arrhythmias /M.P. Fontes, F.R. Marins, M. Limborço-Filho, G.C. Vaz, F.C. Müller-Ribeiro, E. Nalivaiko, C.H. Xavier // Brain research. – 2014. – Vol.1554 – P. 49-58.
167. Gao Shuang. Total sesquiterpene lactones prepared from *Inula helenium* L. has potentials in prevention and therapy of rheumatoid arthritis/S. Gao, Q. Wang, X. Tian et al// Journal of ethnopharmacology - 2017. - VOL.196. - P. 39-46.
168. Ginger. URL: <http://examine.com/supplements/Ginger>

169. Ghosh Sudip. 1,8-cineol-rich Cardamom Seed (*Elettaria cardamomum*) Extracts Using Green Technologies and Conventional Extractions: Process Analysis, Phytochemical Characterization, and Food Application/ S. Ghosh, P. Bhattacharjee, S. Das.// Separation science and technology - 2015 - Vol. 50. - № 13. - P. 1974-1985.
170. Gholampour F. The protective effect of hydroalcoholic extract of Ginger (*Zingiber officinale Rosc.*) against iron-induced functional and histological damages in rat liver and kidney/ F. Gholampour, FB. Ghiasabadi et al. // Avicenna journal of phitomedicine - 2017. - Vol. 7. - № 6.- P. 542-553.
171. Goyal Sameer N. Protective Effects of Cardamom in Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rats/S.N. Goyal, C. Sharma, U.B. Mahajan et al.// International journal of molecular sciences - 2015. - Vol. 16. - № 11. - P. 27457-27469
172. Guyton A.C. Textbook of medical physiology. /A. C. Guyton, J.E. Hall //Philadelphia: Saunders, 11th. – 2006. – P. 1116.
173. He QS. Total Flavonoids in Caragana (TFC) Promotes Angiogenesis and Enhances Cerebral Perfusion in a Rat Model of Ischemic Stroke/ QS. He, S. Li, LL. Li, FR. Hu, N. Weng, XD. Fan, SX. Kuang.// Frontiers in neuroscience - 2018. - Vol. 12. - № 635. - DOI: 10.3389/fnins.2018.00635
174. Himmerich H. Cytokine research in depression: principles, challenges, and questions / H. Himmerich, O. Patsalos, N. Lichtblau et al. //
175. Huo Yan. Chemical constituents of the roots of Inula Helenium / Y. Huo, H. Shi, C. Guo, and X. Li // Chemistry of natural compounds. - 2012. - Vol. 48. - № 3.
176. Jason L.A. What is fatigue? Pathological and nonpathological fatigue / L.A. Jason, M. Evans, M. Brown, N. Porter // PM R. – 2010. – Vol. 2, N 5. - P.327–331.
177. Joshi D. *Zingiber officinale* and 6- gingerol alleviate liver and kidney dysfunctions and oxidative stress induced by mercuric chloride in male rats: A protective approach / D. Joshi, SK. Srivastav, S. Belemkar et al. // Biomedicine and pharmacotherapy - 2017. - Vol. 91. - P. 645-655.

178. Kakorin P. A. Potential Biological Activity and Chemical Composition of Caragana Jubata (Pall.) Poir. (Review)/ P.A. Kakorin, O.I. Tereshkina, G.V. Ramenskaya// Pharmaceutical chemistry journal - 2018. - Vol. 52. - № 6. - P. 531-535.
179. Kakorin P. A. Biologically Active Compounds in Aqueous Extracts of Caragana jubata (Pall.) Poir./ P.A.Kakorin, I.B. Perova, E.D. Rybakova, K.I. Eller, G.V. Ramenskaya, L.A. Pavlova, Y.O. Teselkin// Pharmaceutical chemistry journal - 2018. - Vol. 51. - I. 11. - P. 1014-1020. - DOI: 10.1007/s11094-018-1731-7.
180. Kazemi Shiva. Cardamom supplementation improves inflammatory and oxidative stress biomarkers in hyperlipidemic, overweight, and obese pre-diabetic women: a randomized double-blind clinical trial/ S. Kazemi, F. Yaghooblou, F. Siassi et al// Journal of the science of food and agriculture - 2017.- Vol. 97. - I. 15. - P. 5296-5301
181. Kim Minjee. Alantolactone Improves Prolonged Exposure of Interleukin-6-Induced Skeletal Muscle Inflammation Associated Glucose Intolerance and Insulin Resistance/M. Kim, K. Song, Y.S. Kim//Frontiers in pharmacology - 2017. - Vol. 8. - № 405
182. Kim Minjee. Alantolactone improves palmitate-induced glucose intolerance and inflammation in both lean and obese states in vitro: Adipocyte and adipocyte-macrophage co-culture system/M. Kim, K. Song, Y.S. Kim// International immunopharmacology - 2017. - VOL. 49. - P. 187-194.
183. Koc Kubra. Antioxidant and anticancer activities of extract of Inula helenium (L.) in human U-87 MG glioblastoma cell line/ K. Koc,O. Ozdemir, A.Ozdemir et al//Journal of cancer research and therapeutics - 2018. - VOL. 14. - № 3. - P. 658-661.
184. Kozyrev D. Handbook of free radicals: formation, types and effects / D. Kozyrev, V. Slutsky //Nova Science Publishers. – 2010 – P.642.
185. Kulakova S.N.Biochemical features in rats with different behavioral activity under conditions of emotional stress /S.N. Kulakova, Z.V. Karagodina, V.A. Baturina, N.V. Kirbaeva, N.E. Sharanova , A.V. Vasil'ev, S.S. Pertsov // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2015. – Vol. 158, N.3 – P. 329-332.

186. Lanks K.W. Modulators of the eukaryotic heat shock response /K.W. Lanks //Exp. Cell. Res. – 1986. – Vol.165 N1. – P. 1 – 10.
187. Levi L. Psychosocial stimuli psychophysiological reactions and disease // Acta med. Scand. – 1972. – Entire Suppl. 528.
188. Li Z. Tumor rejection antigen gp96/grp94 is an ATPase: implications for protein folding and antigen presentation./Z. Li, P.K. Srivastava // EMBO J. – 1993. – 12 3143–51.
189. Liu Y. Long term toxicity experimental study of traditional Chinese herb Huangqi / Y. Liu, Y.P. Zhang, Y. Sun, J. Zhang // Modern J. Integr. Tradit. Chin. West. Med. – 2009. – Vol. 18. – N 29. – P. 3545–3547.
190. Liu J. Alantolactone induces apoptosis and suppresses migration in MCF-7 human breast cancer cells via the p38 MAPK, NF-kappa B and Nrf2 signaling pathways/ J. Liu, M. Liu, S. Wang et al.//International journal of molecular medicine - 2018. - VOL. 42. - № 4. - P. 1847-1856.
191. Liu Ya-Rong. Alantolactone, a sesquiterpene lactone, inhibits breast cancer growth by antiangiogenic activity via blocking VEGFR2 signaling/Y. Liu, Q. Cai, Y.Gao et al // Phitotherapy research - 2018. - VOL 32. - № 4. - P. 643-650
192. MacLean PD The Triune Brain in Evolution. Role in Paleocerebral functions.- N.Y.- Lind.: Plenum Press, 1989.
193. Maryam Amara. Alantolactone induces apoptosis, promotes STAT3 glutathionylation and enhances chemosensitivity of A549 lung adenocarcinoma cells to doxorubicin via oxidative stress/A. Maryam, T. Mehmood, H.Zhang, et al.//Scientific reports - 2017. - VOL. 7. - № 6242.
194. Masoumi-Ardakani Yaser. Chemical Composition, Anticonvulsant Activity, and Toxicity of Essential Oil and Methanolic Extract of Elettaria cardamomum/ Y. Masoumi-Ardakani, A. Mandegary, K. Esmaeilpour et al.// Planta medica - 2016 - Vol. 82. - № 17. - P. 1482-1486.

195. Mendes F. Tonic, fortifier and aphrodisiac: adaptogens in the Brazilian folk medicine /F. Mendes // *Braz. J Pharmacology*- 2011. – Vol. 21. – P754-763.
196. Misharina T. A. Antiradical Properties of Essential Oils and Extracts from Coriander, Cardamom, White, Red, and Black Peppers/ T.A. Misharina// *Applied biochemistry and microbiology* - 2016. - Vol. 52. - № 1. - P. 79-86.
197. Mizrahi A. Adaptogens - Natural protectors of the immune system / Springer Sciences+ Business Media New York - 1997.
198. Mohammadi F. Protective effect of zingiber officinale extract on rat testis after cyclophosphamide treatment / F. Mohammadi, H. Nikzad, m. Taghizahed et al. // *Andrology* - 2014. - Vol. 46. - № 6. - P. 680-686.
199. Mosser D. D. Role of the human heat shock protein hsp70 in protection against stress-induced apoptosis. / D. D. Mosser, A. W. Caron, L. Bourget // *Mol. Cell. Biol.* – 1997. – 17 5317–27.
200. Munda S. Chemical analysis and therapeutic uses of Ginger (Zingiber officinale Rosc.) essential oil: a review/ S. Munda, S. Dutta, S. Haldar. // *Journal of essential oil bearing plants* - 2018. - Vol. 21. - № 4. - P. 994-1002.
201. Nagashree Shamarao. Anti-hypercholesterolemic influence of the spice cardamom (*Elettaria cardamomum*) in experimental rats/S. Nagashree, K.K. Archana, P. Srinivas et al.// *Journal of the science of food and agriculture* - 2017. - Vol. 97. - № 10. - P. 3204-3210.
202. Nijveldt RG Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications/ Robert J Nijveldt, Els van Nood, Danny EC van Hoorn, Petra G Boelens, Klaske van Norren, and Paul AM van Leeuwen/ *Am J Clin Nutr* 2001;74:418–25.
203. D.N. Olennikov., V.V. Partilkhaev, *Journal of Planar Chromatography, Modern TLC*, 25(1), 30-35 (2012).
204. D.N. Olennikov, L.M. Tankhaeva, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 48, 317-319(2012).

205. Oliveira D.R. Fortifier, Tonic, and Rejuvenating plants and the Adaptogen Concept / D R Oliveira, SG Leitão // Springer International Publishing Switzerland - 2016. - DOI 10.1007/978-3-319-28155-1_23
206. Orhan N. Antioxidant potential and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects of five Inula species and their major compounds/N. Orhan, A. Gokbulut, D.D. Orhan// South African journal of botany - 2017. - VOL. 111. - P. 86-92.
207. Overmier J. The ulcerogenic effect of a rest period after exposure to water-restraint stress / J. Overmier, R. Murison, H. Ursin // Behav. Neural. Biol. – 1986. – Vol. 46. – P. 372–386
208. Ozkan Osman Emre. Chemical composition and antimicrobial activity of Myristica fragrans & Elettaria cardamomum essential oil/ O.E. Ozkan, C. Olgun, B. Guney et al.// Kastamonu university journal of forestry faculty - 2018. - VOL. 18. - № 2.- P. 225-229
209. Panossian A. Effects of adaptogens on the central nervous system and the molecular mechanisms associated with their stress-protective activity / A. Panos-sian, G. Wikman // Pharmaceuticals. - 2010. - N3. - P.188-224
210. Panossian A. Adaptogens exert a stress-protective effect by modulation of expression of molecular chaperones / A. Panossian, G. Wikman, P. Kaur, A. Asea // Phytomedicine - 2009. - Vol. 16. - P. 617-622.
211. Panossian A. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action / A. Panossian, G. Wikman, H. Wagner // Phytomed. – 1999. – Vol. 6(4). – P. 287-300.
212. Panossian A.G., Adaptogens in mental and behavioral disorders / A.G. Panos-sian// Psychiatric Clinics Of North America. – 2013. – Vol. 36, N.1. – P. 49 – 64.
213. Panossian A. Stimulating effect of adaptogens: an overview with particular reference to their efficacy following single dose administration / A. Panossian, H. Wagner // Phytother Res. – 2005. – Vol. 19, N 10. – P. 819-838.

214. Panossian A. The Adaptogens Rodiola and Shizandramodfy the response to Immobilization Stress in Rabbits by suppressing the Insecrease of phosphorylated Stress-activated Protein Kinase, Nitric Oxide and Cortisol / A. Panossian, M Hambartsumyan, A. Hovanissiyan// Drug Target Insights . – 2007. – 1. – 39-54
215. Papp M, Willner P, Muscat R. An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. Psychopharmacology. 1991;104(2):255-259. doi: 10.1007/bf02244188.
216. Prabha M. Esterase's properties in commonly used Indian spices for Alzheimer's disease model/ M. Prabha, T.S. Anusha// Journal of biochemical technology - 2015. - Vol. 6. - № 1. - P. 875-882.
217. Qiblawi Samir. Chemopreventive Effect of Cardamom (*Elettaria cardamomum* L.) Against Benzo(a)Pyrene-Induced Forestomach Papillomagenesis in Swiss Albino Mice/ S. Qiblawi, S. Dhanarasu, M.A - I. Faris// Journal of environmental pathology technology and oncology - 2015- Vol. 34. - № 2. - P. 95-104.
218. Rahman MD Mizanur. Cardamom powder supplementation prevents obesity, improves glucose intolerance, inflammation and oxidative stress in liver of high carbohydrate high fat diet induced obese rats/M.M. Rahman, M.N. Alam, A. Ulla, et al// Lipids in health and disease - 2017.- Vol. 16. - № 151
219. Rani V Free radicals in human health and disease / V. Rani, U. Yadav // Springer India. – 2015 – 430 p.
220. Saeed Asma. Antioxidant and Antimutagenic Potential of Seeds and Pods of Green Cardamom (*Elettaria cardamomum*)/ A. Saeed, B. Sultana, F. Anwar et al// International journal of pharmacology - 2014. - Vol. 10.- № 8. - P. 461-469.
221. Samual SM Akt/FOXO3a/SIRT1 – mediated cardioprotection by tirosol against stress in rat in vivo model of myocardial infarction: switching gears toward survival and longevity/ SM Samual, M. Thirunaavukkarasu, SV Penumathsa//J.Agric. Food Chem. 2008. – 56. – 9692-9698

222. Saputri FC. Combination of ginger and sappan wood extract effect jn in vivo antithrombotic activity test / FC. Saputri, N. Nabila, A. Munim // Journal of young pharmacists - 2017. - Vol. 9. - № 1. - P. S46-S48.
223. Schriner S.E., Avanesian A., Jafari M., Liu Y., Luesch H. Protection of human cultured cells against oxidative stress by Rhodiola rosea without activation of antioxidant defenses / S.E. Schriner, A. Avanesian, M. Jafari, Y. Liu, H. Luesch // Free radical biology & medicine/ - 2009. – Vol. 47 №5. – P. 577-584.
224. Seifter S. The estimation of Glycogen with the Antron Reagent / S. Seifter //Arch. Biochem. – 1950. – Vol. 25. – P. 191-200.
225. Selye H. A syndrome produced by diverse nocuous agents / H. Selye // Nature. – 1936. – Vol. 138. – P. 32 – 40.
226. Selye H. Stress without distress./ H. Selye // N.Y., 1974.
227. Semakov A. V. Synthesis and Antiproliferative Activity of Conjugates of Anthracycline Antibiotics with Sesquiterpene Lactones of the Elecampane/A.V.Semakov, L.V. Anikina, S.V..Afanasyeva, et al// Russian journal of bioorganic chemistry -2018.- VOL 44.- № 5.- P. 538-546
228. Seo Ji Yeon. Alantolactone and Isoalantolactone Prevent Amyloid (25-35)-induced Toxicity in Mouse Cortical Neurons and Scopolamine-induced Cognitive Impairment in Mice/J.Y. Seo, S.S. Lim, J. Kim et al// Phytotherapy research - 2017. - VOL. 31. - № 5. - P. 801-811
229. Seyoum A. Structure-radical scavenging relationships of flavonoids / A. Seyoum, K. Asres, F.K. El-Fiky // Phytochemistry. – 2006. – Vol. 67. – N 18. – P. 2058-2070.
230. Singh B. Evaluation of Geriforte, an herbal geriatric tonic, on antioxidant defense system in Wistar rats / B. Singh, S.P. Sharma, R. Goyal // Ann NY Acad Sci. – 1994. Vol. 717. – P. 170-173
231. Spiridon L. Antioxidant and chemical properties of Inula helenium root extracts / L. Spiridon, C.B. Nechita, M. Niculaua, M. Silion, A. Armatu, C-A. Teaca, R. Bodirlau// Centr. Eur. J. Chem. - 2013. - Vol. 11. - №10. - P. 1699-1709

232. Smith E. L. Principles of biochemistry: Mammalian biochemistry / E. L. Smith, R. L. Hill, I.R. Lehman. //7th ed N. Y.:Mc Graw-Hill. – 1983. – P. 355 – 619.
233. Tohma H. Antioxidant activity and phenolic compounds of ginger (*Zingiber officinale Rosc.*) determinated by HPLC-MS/MS / H. Tohma, I. Gulcin, E. Bursal et al.// Journal of food measurement and characterization - 2017. - Vol. 11 - № 2. - P. 556-566.
234. Trofimiuk E. Prevention of stress-induced cognitive impairment: Today and Tomorrow/ E. Trofimiuk, J.J. Braszko // Springer International Publishing Switzerland - 2015. - DOI 10.1007/978-3-319-17103-6_10
235. Vecchiet J. Relationship between musculoskeletal symptoms and blood markers of oxidative stress in patients with chronic fatigue syndrome / J. Vecchiet, F. Cipollone, K. Falasca, A. Mezzetti, E. Pizzigallo, T. Bucciarelli, S. De Laurentis, G. Affaitati, D. De Cesare, M.A. Giamberardino // Neurosci Lett. - 2003. – Vol. 2, N 3. – P. 151-154.
236. Vlaskovska M. Opioid effects on $^{45}\text{Ca}^{2+}$ uptake and glutamate release in rat cerebral cortex in primary culture / M. Vlaskovska, M. Schramm, I. Nylander // et al. J Neurochem. – 1997. – Vol. 68, N 2. – P. 571–24
237. Wagner S. Redox regulation of sodium and calcium handling / S. Wagner, A.G. Rokita, M.E. Anderson, L.S. Maier // Antioxid Redox Signal. – 2013. – Vol. 18, N 9. – P. 1063-1077.
238. Wang Qun. Total sesquiterpene lactones isolated from *Inula helenium* L. attenuates 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions in mice. /Q. Wang, Sh. Gao, G. Wu et al.// Phitomedicine -2018.- VOL. 46. - P. 78-84.
239. Wang Xun. Alantolactone, a natural sesquiterpene lactone, has potent antitumor activity against glioblastoma by targeting IKK beta kinase activity and interrupting NF-kappa B/COX-2-mediated signaling cascades/ X. Wang, Z. Yu, C. Wang et al.// Journal of experimental and clinical cancer research - 2017. - Vol. 36. - № 93.
240. Wilson L.D. Review of adaptogenic mechanisms: *Eleuthrococcus senticosus*, *Panax ginseng*, *Rhodiola rosea*, *Schisandra chinensis* and *Withania somnifera* / L.D. Wilson // Australian journal of medical herbalism. – 2007. – Vol.19, №3. – P. 126-138.

241. Wong CPF. Effects of Panax Ginseng supplementation on physiology responses during endurance performance/CPF Wong, A. Bandyopadhyay, C.K. Chen//J. Mens Health. – 2011. – V.8. – s.78-s.80 doi: 10.1016/S1875-6867(11)60028-6
242. Yuwiler A., Stress, anxiety and endocrine function / A Yuwiler // Biological foundations of psychiatry Ed. R. Grenell, S. Galay. N. Y.: Raven press. – 1976.
243. Zelenskaya K.L. Stress-inducing effect of hypoxia of different origin and its correction with Inula Helenium L. tincture / K.L. Zelenskaya, T.N. Povet eva, V.G. Pashinskii, T.N. Fomina, E.A. Timina, and A.V. Perova // Bulletin of Experimental Biology and medicine. - 2005. - Vol. 139. - № 4. - P. 406-409.
244. Zeng Zhi. A sensitive pre-column derivatization method for the analysis of free fatty acids by RP-HPLC with fluorescence detector and its application to Caragana species/ Z. Zeng, Z. Ji, N. Hu et al.// Journal of chromatograph B-analytical technologies in the biomedical and life sciences - 2017. -Vol. 1064. - P. 151-159.
245. Zhang Bo. Ethyl acetate extract from Inula helenium L. inhibits the proliferation of pancreatic cancer cells by regulating the STAT3/AKT pathway/B. Zhang, J. Zeng, Y. Yan, et al// Molecular medicine reports - 2018 - VOL. 17. - № 4. - P. 5440-5448
246. Zhou Bailun. Metabolism and pharmacokinetics of alantolactone and isoalantolactone in rats: Thiol conjugation as a potential metabolic pathway/ B. Zhou, J. Ye, N.Yang, Niao et al.//Journal of chromatograph B-analytical technologies in the biomedical and life sciences - 2018. - Vol. 1072. - P. 370-378