

Казахский Национальный университет им. аль-Фараби

УДК 57:635.45 (043)

На правах рукописи

ШОҚАН АҚШОЛПАН ҚАНАТҚЫЗЫ

**Изучение токсико-фармакологических свойств биологически активного
комплекса на основе *Rumex tianschanicus* Losinsk**

8D05101 – Биология

Диссертация на соискание степени доктора философии (PhD)

Научный руководитель:
к.б.н., ассоц. профессор
Кудрина Наталья Олеговна

Зарубежный научный руководитель:
д.б.н., профессор зав. ЛФИ
Новосибирского института
органической химии
им.Н.Н. Ворожцова СО РАН
Толстикова Татьяна Генриховна

Республика Казахстан
Алматы, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
ОПРЕДЕЛЕНИЯ	5
ЗНАКИ И СОКРАЩЕНИЯ	6
ВВЕДЕНИЕ	7
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1 Общая биологическая характеристика представителей рода <i>Rumex</i> . Распространение <i>R. tianschanicus</i>	12
1.2 Фитохимический состав представителей рода <i>Rumex</i> , его применение в традиционной медицине и биологические механизмы влияния БАВ растений на организм людей и животных	13
1.3 Современные представления о патогенезе гастрита и язвенной болезни желудка	16
1.4 Характеристика лекарственных средств, используемых для профилактики и терапии заболеваний желудка	17
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	21
2.1 Сбор и обработка растительного материала. Идентификация и определение вида <i>R. tianschanicus</i> L.	21
2.2 Методы определения фитохимического состава корней и комплекса из корней <i>R. tianschanicus</i> L.	21
2.3 Определение летучих органических соединений методом газовой хроматографии с масс – спектрометрическим детектированием	25
2.4 Методы определения токсичности комплекса <i>R. tianschanicus</i> L.	25
2.5 Методы гематологического и биохимического исследования	27
2.6 Метод количественной оценки элементов костного мозга (миелограмма)	27
2.7 Экспериментальные модели	28
2.7.1 Язва желудка, индуцированная индометацином	28
2.7.2 Воспалительный отек лапы, индуцированный гистамином	29
2.7.3 Воспалительный отек лапы, индуцированный формалином	29
2.8 Методы гистологического исследования	30
2.9 Методы определения антиоксидантной активности	30
2.10 Статистическая обработка результатов	31
3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	33
3.1 Изучение фитохимического состава БАК на основе корней <i>R. tianschanicus</i> L.	33
3.2 Изучение острой и хронической токсичности биологически активного комплекса на основе <i>R. tianschanicus</i> L.	40

3.3 Влияние биологически активного комплекса <i>R. tianschanicus</i> L. на количественные показатели клеток периферической крови и костного мозга в условиях <i>in vivo</i>	51
3.4 Исследование противоязвенной активности комплекса <i>R. tianschanicus</i> L. на модели индометациновой язвы	59
3.5 Исследование противовоспалительной активности комплекса <i>R. tianschanicus</i> L. на модели формалинового отека лапы мышей	66
3.6 Исследование противовоспалительной активности комплекса <i>R. tianschanicus</i> L. на модели гистаминового отека лапы мышей	67
3.7 Исследование антиоксидантной активности комплекса <i>Rumex tianschanicus</i> L.	68
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	72
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	74
ПРИЛОЖЕНИЯ А	88
ПРИЛОЖЕНИЯ Б	89
ПРИЛОЖЕНИЯ	90

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

Закон Республики Казахстан «О науке» от 18.02.2011 г. №407-IVЗРК;
ГОСТ РК 5.04.034-2011. Государственный общеобразовательный стандарт образования Республики Казахстан. Послевузовское образование. Докторантура. Основные положения (изменения от 23 августа 2012 г. №1080);
ГОСТ 7.1-2003. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления

ГОСТ 7.32-2017. Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В данной диссертации использовались следующие соответствующие термины определения:

Метаболиты – продукты метаболизма каких-либо соединений.

Экстракт – концентрированное вещество извлеченное из лекарственного растительного сырья или животного происхождения, представляющие собой подвижные, вязкие жидкости или сухие массы.

Экспериментальная модель – воспроизведение патологического состояния у животных в экспериментальных условиях.

Токсичность – свойство вещества при попадании в определенных количества в организм человека, животных или растений вызывать их отравление или гибель.

Острая токсичность – токсичность, вызываемая лекарственным препаратом при введении одной или нескольких доз в срок, не превышающий 24 часа.

Хроническая токсичность – совокупность функциональных и/или морфологических нарушений органов и систем подопытного животного после повторного введения.

Воспаление — это реакция иммунной системы организма на раздражитель или повреждение.

Язва желудка – дефект слизистой оболочки и подлежащих тканей органа.

Окислительный (оксидативный) стресс - это состояние, характеризующееся дисбалансом между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов, может оказывать существенное воздействие на организм.

ЗНАКИ И СОКРАЩЕНИЯ

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты
ЯБ – язвенная болезнь
ЛД₅₀ – летальная доза₅₀
СОЖ – слизистая оболочка желудка
ШИК – окраска реактивом Шиффа и йодной кислотой
ИП – индекс Паулса
ИПП – ингибиторы протонной помпы
ПА – показатель противоязвенной активности
ПГЕ2 – простагландин Е2
ЦОГ – циклооксигеназа
БАК – биологически-активный комплекс
КА – коэффициент атерогенности
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
АОА-антиоксидантная активность
ЩФ – щелочная фосфатаза
HGB – Hb, hemoglobin – концентрация гемоглобина в цельной крови
HCT – hematocrit – гематокрит
PLT –platelets, кровяные пластинки, абсолютное содержание тромбоцитов
MCV – средний объём эритроцита
MCH – среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците
MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроцитарной массе
MPV – mean platelet volume, средний объём тромбоцитов
PDW – относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму, показатель гетерогенности тромбоцитов
PCT – platelet crit, тромбокрит
LYM – lymphocyte, содержание лимфоцитов
NEUT – neutrophils, содержание нейтрофилов
MON – monocyte, содержание моноцитов
ЭО – содержание эозинофилов
БА – содержание базофилов
MCV – средний объём эритроцитов
MCH – среднее содержание гемоглобина в эритроците
MCHC – средняя концентрация гемоглобина в эритроците
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования.

Острый и хронический гастрит, гастроэзофагальная рефлюксная болезнь и язвенная болезнь желудка являются широко распространенными заболеваниями. Их развитие определяется нарушением баланса защитных факторов, к которым относятся продукция защитного слоя муцинов, целостность эпителиального слоя, простагландины и кровообращение в слизистая оболочка желудка (СОЖ), и агрессивных воздействий: кислотно-пептического фактора, гастротоксичных компонентов пищи и лекарств, патогенной микрофлоры СОЖ [1, 2]. Данные заболевания характеризуются рядом опасных для жизни осложнений, в том числе при язвенной болезни желудка на поздних стадиях может наблюдаться прободение стенок с развитием кровотечения с возможным летальным исходом [3-5]. Неблагоприятным исходом хронического гастрита, в свою очередь, является атрофический гастрит, при котором СОЖ в ходе патологической регенерации может подвергаться метапластической перестройке с высокой вероятностью малигнизации [6, 7]. В связи с этим необходимой является медикаментозная коррекция патологий желудка [8].

В настоящее время в клинической практике представлено большое количество противоязвенных средств разных фармакологических групп, действие которых направлено на стимуляцию защитных механизмов, либо на ограничение повреждающих факторов [9, 10]. Наиболее часто используемыми средствами, назначаемыми практически при любой патологии желудка, являются антисекреторные агенты, снижающие продукцию соляной кислоты париетальными клетками желез желудка, и антацидные препараты, нейтрализующие кислоту [11, 12]. Эти средства, несомненно, обладают высокой эффективностью как при терапевтическом, так и при профилактическом применении. Однако механизм их действия подразумевает угнетение пищеварительной функции желудка в целом, поскольку кислая среда необходима для активации и функционирования желудочных ферментов, а также для денатурации пищевых белков и повышения доступности химуса для ферментов [13-15]. Следовательно, главным побочным эффектом этих препаратов являются диспепсические расстройства. Кроме того, отмечено, что следствием подавления антисептической активности желудочного сока при длительном применении указанных средств у пациентов повышается риск развития инфекционных заболеваний желудочно-кишечного тракта, а также аспирационной пневмонии, возникающей при занесении болезнетворных бактерий из желудка в дыхательные пути [16-18]. Лекарственные препараты, обеспечивающие защиту СОЖ и/или стимулирующие регенерацию эрозивно-язвенных дефектов без ингибирования желудочной секреции, мало представлены в аптечной сети. В то же время, результаты медицинских статистических исследований указывают на необходимость разработки таких средств для профилактики язвообразования при применении гастротоксичных лекарств (НПВП) и для восстановления СОЖ при атрофическом гастрите,

эрадикационной терапии, обострений язвенной болезни. Препараты, относящиеся к группе репаративов (метилурацил, солкосерил, препараты витаминов и др.) обладают незначительной эффективностью [19]. Назначение и применение гастропротекторных средств (мизопростол, карбеноксолон др.), обладающих выраженными протективными и регенеративными свойствами, в значительной мере ограничено часто возникающими побочными эффектами, такими как боли в животе, диарея, нарушение водно-солевого обмена, менструального цикла [20].

Таким образом, актуальной исследовательской задачей является поиск и разработка противоязвенных агентов нового структурного типа, обладающих гастропротекторными свойствами, безопасных и не ослабляющих пищеварительную функцию желудка. Перспективным направлением является изучение активности соединений растительного происхождения, обладающих, как правило, широким спектром фармакологического действия, низкой токсичностью и высокой доступностью в природном сырье. Использование природных соединений позволяет получить субстанции, обладающие более выраженной активностью и направленностью действия по сравнению с оригинальными молекулами. Одним из потенциальных источников природных веществ, обладающих широким спектром лечебного действия, являются казахстанские растения рода *Rumex* L., одиннадцать из которых, имеют промышленные запасы на территории Республики Казахстан являясь перспективным растительным сырьем для отечественных предприятий фармацевтической промышленности [21-25]. Данная работа посвящена изучению токсико-фармакологических свойств биологически активного комплекса на основе экстракта корней *Rumex tianschanicus* Losinsk.

Объект исследования – биологически активный комплекс, полученный на основе спиртового экстракта корней *Rumex tianschanicus* Losinsk.

Методы исследования – во время проведения исследовательской работы по теме диссертации были использованы следующие методы: гематологические, биохимические, цитологические, гистологические, физиологические, фитохимические, фармакологические.

Цель работы: изучить токсико-фармакологические свойства биологически активного комплекса на основе спиртового экстракта корней *R.tianschanicus* L.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Получить биологически активный комплекс из корней *R. tianschanicus* L. и изучить его химический состав;
2. Провести анализ острой и хронической токсичности биологически активного комплекса (далее БАК), полученного на основе спиртового экстракта корней *R.tianschanicus* L.;
3. Оценить противоязвенную активность БАК, на модели язвы желудка лабораторных крыс, индуцированной индометацином;

4. Изучить противовоспалительную активность БАК на моделях воспаления лапы мышей, индуцированных гистамином и формалином;

5. Изучить антиоксидантную активность БАК с использованием β -каротина и линолевой кислоты, а также методами DPPH, ABTS, CUPRAC и хелатирования металлов.

Теоретико-методологическая база исследования:

Сбор экспериментальных растений был произведен в горах Заилийского Алатау, в районе Большого Алматинского озера. Гербарный материал был идентифицирован в РГП на ПХВ Институте ботаники и фитоинтродукции КН МНВО РК. Анализ органических соединений корней и БАК проводили методом газовой хроматографии с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектированием (Thermo Fischer Trace 1310 с TSQ 8000 Evo).

Личный вклад автора в научные результаты - обоснование выбора направления исследования, определение цели и задач диссертационной работы, проведение экспериментальных работ, обработка результатов исследования, статистический анализ полученных данных. Литературный обзор, подготовка тезисов и статей к публикации, изложенные основные результаты в диссертации, осуществлялась с участием соавторов.

Экспериментальные исследования БАК по оценке фармакотоксичности, моделирования воспаления и язвы желудка проводились, согласно биоэтическим правилам по принципу проведения исследований на животных, утвержденным Приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 11 декабря 2020г. Зарегистрировано в Министерстве юстиции Республики Казахстан 15 декабря 2020 года № 21794.

Научная новизна и значимость диссертационной работы.

Новизна данного исследования заключается в том, что проведенный сравнительный фитохимический анализ впервые показал наиболее высокое содержание биологически активных веществ (БАВ) в корнях *R. tianschanicus* Losinsk в фазе покоя.

В данной работе впервые была доказана токсико-фармакологическая безопасность и терапевтическая эффективность на основе спиртового экстракта корней *R. tianschanicus* L. с использованием экспериментальных моделей лабораторных крыс и мышей. Оценка проводилась на основании полученных в данной работе гематологических, биохимических и патоморфологических данных, а также количественного анализа форменных элементов костного мозга, что позволило установить как безопасность, так и потенциальные лечебные свойства данного БАК. Впервые было изучено противовоспалительное действие БАК на различных моделях воспаления *in vivo*.

В экспериментальных исследованиях впервые было установлено, что данный БАК, способствует уменьшению площади повреждения слизистой оболочки желудка и количества пораженных очагов. Полученные в данной работе результаты свидетельствуют о положительном влиянии БАК на регенерацию слизистых оболочек и демонстрируют его высокий потенциал для дальнейших клинических испытаний.

Теоретическая значимость научно-исследовательской работы. Полученные в данной работе результаты предклинических испытаний могут служить обоснованием для разработки препарата на основе экстрактов корней *R. tianschanicus* L. для эффективной комплексной терапии воспалительных процессов органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Кроме того, экспериментальное обоснование и доказательство безопасности и эффективности БАК позволит рекомендовать его в качестве основы для разработки препаратов нового поколения что, в свою очередь, повысит конкурентоспособность отечественных фармацевтических предприятий Республики Казахстан на зарубежных рынках.

Практическая значимость полученных результатов.

Результаты исследований, представленные в диссертации, позволяют в перспективе расширить спектр ассортимента фармакологически активных природных флавоноидов и антрахинонов, производимых в Республике Казахстан. Это создаст возможность выведения на отечественный фармацевтический рынок нового экспорториентированного и импортозамещающего препарата широкого спектра действия, предназначенного для профилактики и лечения воспалительных процессов и поражений слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Сравнительный фитохимический анализ демонстрирует наиболее высокое содержание БАВ в корнях *R. tianschanicus* L. в фазе покоя;
2. Биологически активный комплекс биологически активный комплекс на основе экстрактов корней *R. tianschanicus* L. является безопасным по данным оценки острой и хронической фармакотоксичности, не обладает гепато-, нефро- и гемотоксическими свойствами в экспериментах *in vivo*;
3. Пероральное введение биологически активного комплекса на основе экстрактов корней *R. tianschanicus* L. лабораторным крысам в течение 10 суток в дозе 100 мг/кг на фоне индометацин индуцированной язвы желудка способствовал регенерации слизистой оболочки желудка, проявляя противоязвенную активность;
4. Биологически активный комплекс на основе экстрактов корней *R. tianschanicus* L. обладает противовоспалительными свойствами в условиях экспериментального моделирования гистаминового отека лапы мышей;
5. Комплекс на основе *R. tianschanicus* L. обладает антиоксидантной активностью по результатам тестов DPPH, ABTS, CUPRAC.
6. По данным экспериментального исследования на лабораторных крысах антрахинон-флавоноидный комплекс на основе экстрактов корней *R. tianschanicus* L. можно рекомендовать в качестве профилактического

средства при язве желудка.

Личный вклад докторанта в подготовке каждой публикации заключался в сборе данных о предмете исследований, сборе растений, выполнении лабораторных исследований на растениях и животных объектах, включая анализ, интерпретацию и оформление полученных результатов, подготовке рукописей публикаций.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа выполнена в рамках ПЦФ №ОР11465435 «Разработка и использование новых геномных технологий для защиты организмов от мутагенного воздействия, повышения продуктивности природных ресурсов и улучшения качества жизни населения» 2021-2022 гг. КН МНВО РК на 2020-2022 годы. Научный руководитель проекта к.б.н, профессор Джансугурова Л.Б.

Рассмотрение и утверждение результатов работы. Основные результаты диссертации ежегодно заслушивались на научно-техническом совете факультета «Биологии и биотехнологии», на заседаниях кафедры «Биоразнообразия и биоресурсов» КазНУ им. аль-Фараби и Ученом Совете РГП на ПХВ «Институт генетики и физиологии» КН МНВО РК.

Публикация результатов исследования. Основное содержание диссертации опубликовано в 10 печатных работах, в том числе 1 статья в международных рецензируемых журналах с импакт-фактором, входящих в базы данных Scopus (Q1) и Web of Science; 4 статьи в журналах из перечня изданий, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки (КОКСОН) Министерства высшего образования и науки Республики Казахстан для публикации основных результатов научной деятельности, 5 тезисов в материалах международных и республиканских конференций, из которых 2 зарубежные.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из 90 страниц текста и введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, 215 библиографии, 3 приложений, 21 таблиц, 23 рисунка.

1 Обзор литературы

1.1 Общая биологическая характеристика представителей рода *Rumex* и распространение *R. tianschanicus* Losinsk

Согласно литературным данным, род *Rumex* L. из семейства *Polygonaceae* Juss. насчитывает около 200 видов. Растения рода *Rumex* распространены в Европе, Азии, Африке и Северной Америке, но более широко распространены в умеренной зоне северного полушария [26,27]. Как известно, растения этого рода цветут с апреля по май, а их семена созревают с мая по июнь. Ботанически установлено, что эти растение- однолетники, двулетники или многолетники. Обычно у них длинные толстые корни, иногда корни корневищные. Листья очередные, иногда головчатые или стреловидные, [28, 29].

Сообщается, что, несколько видов *Rumex* включены в фармакопеи разных стран. Например, *R. crispus* указан в Американской травяной фармакопее как средство общего детоксикации и средство для лечения кожи [30]. В Государственную фармакопею РФ корни *R. confertus* включены как лекарственное средство, применяемое при лечении заболеваний печени, дизентерии, легочных и маточных кровотечений, а также как слабительное средство [31, 32]. В нигерийской, индийской, китайской и индонезийской медицине листья *R. nepalensis* традиционно используются из-за их мочегонных, вяжущих, слабительных и седативных свойств [33].

Растения рода *Rumex* богаты вторичными метаболитами, в частности флаваноиды и антрахинонами, которые, вероятно, ответственны за лечебные свойства, приписываемые этим видам [34]. По числу публикаций, представленных в обзоре видов *Rumex*, наиболее изучены *R. acetosa*, *R. obtusifolius*, *R. crispus*, *R. acetosella* и *R. dentatus* [35]. Однако имеющиеся данные по сравнению фитохимического состава растений Румекса, произрастающих на одной территории, крайне редки.

Rumex tianschanicus Losinsk – многолетнее травянистое растение из семейства гречишные (лат. *Polygonaceae*). Стебель толстый, крепкий, полый, крупно-бороздчатый, высотой до 150 см, ветвящийся. Стеблевые листья широкояйцевидные, по краю волнистые. Пластинка с выдающимися жилками, сизоватая или светло-зеленая, черешки короткие, сверху плоские, снизу килеватые. Цветки в редких, малоцветковых мутовках. Цветоножки тонкие, в, 1,5-3 раза превышающие длину плода. Доли околоцветника при плодах сердцевидные, с заостренной верхушкой, по краю неровные, одна из долей несет довольно крупный желвачок, остальные с неразвитыми желвачками. Встречается в Заилийский Кунгей Алатау и Киргизский Алатау. Растет по склонам гор и долинам горных рек на высотах 1700 до 2700 метров над уровнем моря [36 – 38]

На поперечном срезе корня щавеля тяньшанского можно увидеть толстый слой темно-коричневый пробки, коры, камбия и древесины. Флоэма и ксилема (элементы проводящей ткани) расположены радиальными тяжами и отделены друг от друга широкими сердцевидными лучами. В паренхиме корня

встречаются многочисленные друзы оксалата кальция диаметром 20-60мкм, одиночно или группы каменистых клеток желтого цвета с коричневым содержимым, которые имеют неправильную форму. Стенки паренхимы утолщены. Флоэма состоит из мелких тонкостенных клеток, образующих прилегающие к камбию тяжи треугольной формы. Ксилема состоит из узко- и широкопросветных сосудов, которые расположены радиально в один ряд мелких клеток древесины паренхимы. Сосуды имеют точечную, спиральную, сетчатую перфорацию [38]. По данным литературы, сообщается, что различные виды щавелей издавна используются народной и официальной медициной разных стран, например, корни, трава и семена щавеля известны в качестве вяжущего средства при поносах и как кровоостанавливающее при внутренних кровотечениях [39].

Однако имеющиеся литературные данные по активности биологически активных компонентов, полученных из вида *R. tianschanicus*, немного, поэтому изучение этого вида является важным.

1.2 Фитохимический состав представителей рода *Rumex*, его применение в традиционной медицине и биологические механизмы влияния БАВ растений на организм людей и животных

На сегодняшний день вторичные метаболиты, называемые биологически активными соединениями, представляют собой химические соединения лекарственной флоры, ответственные за их многочисленные лечебные свойства [40], что делает их ценными для медицины. Эти соединения демонстрируют различные антиоксидантные, противовоспалительные, противоязвенные и противораковые свойства [41]. Идентификация биологически активных соединений лекарственных растений имеет важное значение для определения их потенциального терапевтического применения; они содержат вещества для лечения хронических и инфекционных заболеваний [42, 43].

Для растений рода *Rumex* характерно накопление ряда биологически активных компонентов, таких как антрахиноны, флавоноиды и стильбеноиды [44].

Музычкиной Р.А. и соавт. 2015 было показано, что в химическом составе *R. tianschanicus* Losinsk имеются следующие биологически активные вещества: антрахиноны (1,8-диоксиантрахинон; 3-метил-1,8-диоксиантрахинон; 3-оксиметил-1,8-диоксиантрахинон), антоцианы (3-O-b) и флавоноиды (кверцетин; мирицетин;), кумарины (7-оксикумарин; 6,7-диоксикумарин; 6-метокси-7-оксикумарин;) [45], а также углеводы, органические и фенолкарбоновые кислоты, катехины [46]. Также опубликованы результаты, доказывающие, что общее содержание метаболитов полифенольного типа в листьях щавеля тяньшанского, в зависимости от фазы вегетации вида от 6,27 до 7,02%; в стеблях – от 6,87 до 9,79% и в корнях – от 7,62 до 9,75%.

Как известно, флавоноиды — одна из доминирующих групп веществ, определяющих фотохимический состав растений рода *Rumex*. Наличие флаван-3-олов и других фенольных соединений в листьях щавеля дает дополнительные преимущества как богатому физиологически активными веществами сырью [47 – 49].

Литвиненко Ю.А. и соавт. 2012 исследовали корни *R.tianschanicus*, *R. confertus* и предложили использовать 50%-ный ацетон для извлечения из растения более широкого круга соединений и микроэлементов (K, Na, Ca, Mg, Fe, Zn, Ni и Mn) с эффективностью 30%. *R.tianschanicus* содержал, среди прочего, дубильные вещества (22%), антрахиноны (2,8%), флавоноиды (2,9%) и полифенольные соединения (4,3%) [50].

Согласно исследованиям, было показано что корни вида *R. confertus* содержат большое количество хризофанола и родственных производных антрацена и поэтому рассматриваются для использования в фармацевтической практике [51].

Как было показано в исследованиях Музычкина Р.А., 2015 *R.tianschanicus* богат вторичными метаболитами, в частности флаваноидами и антрахинонами, которые, ответственны за лечебные свойства, приписываему этому виду видам [52]. Список антрахинонов, который содержит этот вид включает, помимо прочего, хризофанол, фисион и эмодин [53]. Эти соединения также проявляют проявляли антиканцерогенную, противовоспалительную, противоязвенную противогрибковую, антибактериальную, антиоксидантную и мочегонную активность [54]. Как упоминалось выше, флавоноиды-важный класс соединений, определяющих терапевтический эффект растений *Rumex*.

Чтобы сохранить максимум биологически активных веществ, их необходимо тщательно мыть и сушить при комнатной температуре. Растения этого рода выделяются рядом преимуществ от доминирующего растительного ядра луговых фитоценозов умеренного климатического пояса: короткий вегетационный период, интенсивный прирост биомассы, нетребовательность к условиям произрастания. Кроме того, этот в род растений известен как суперпроизводитель вторичных метаболитов. Широкое распространение и интенсивный синтез биологически активных веществ делают растения рода *Rumex* перспективным объектом для изучения [55 - 58]. Растение в течение года накапливает различные соединения; поэтому, для получения терапевтически активного экстракта, лучше собирать корни весной или осенью.

В настоящее время растительные метаболиты составляют значительную часть доходов фармацевтической промышленности, а использование растительного сырья в качестве источника биоактивных соединений имеет большое экономическое значение [59, 60].

В исследованиях El-Hawary S.A. и др. 2012 показали, что эмодин эффективен при остром панкреатите, при язвенном колите и ревматоидном артрите. Эмодин может быть потенциальным ингредиентом-кандидатом для лечения язвенного колита [60].

Согласно исследованиям, было показано что корни вида *R. confertus* содержат большое количество хризофанола и родственных производных антрацена и поэтому рассматриваются для использования в фармацевтической практике [61].

Хризофанол — уникальный антрахинон, обладающий терапевтическим потенциалом широкого спектра наряду с экологическим значением. Сообщается, что традиционные китайские и корейские медицинские системы свидетельствуют о благотворном влиянии хризофанола на здоровье человека. В частности, для хризофанола доказана противораковая, гепатопротекторная, нейропротекторную, противовоспалительная, противоязвенная и противомикробная активность. Однако для использования хризофанола в качестве лекарственного средства требуются дальнейшие исследования его безопасности [62].

Впервые хризофанол был обнаружен в *Rheum rhabarbarum*, травянистом многолетнем растении, принадлежащем к семейству Polygonaceae [63, 64]. Важно отметить, что хризофанол является основным компонентом растительных экстрактов, которые используются во многих традиционных китайских лекарствах (ТКМ); например, гранулы Цюй Цинрэ используются при синдроме застоя крови [65], отвар Дахуан Фуцзы (Dahuang Fuzi) используется при хронической болезни почек [66], отвар Да-чэн-Ци (Da-cheng-Qi) используется при запорах, капсулы Ицин используются при воспалениях [67], Сососо (Sososo) используется при ожирении [68], Сан-Хуан-Се-Синь-Тан (San-Huang-Xie-Xin-Tang) используется при защите желудка [69].

По данным Сулейман и др. 2004, хризофанол и его богатый экстракт лекарственных растений значительно защищают желудочно-кишечный тракт от холодостойкой язвы, алкоголя, аспирина и вызванной перевязкой пилорического отдела язвы у крыс [70]. Было обнаружено, что, хризофанол эффективно снижал общее количество и количество свободных кислот путем ингибирования активности $H^+ / K^+ -ATP$ азы *in vitro*. Однако он проявлял меньшую активность, чем эмодин. Активация секреции муцина, защитный механизм язвы, также наблюдалась у мышей, получавших хризофанол [71].

Многочисленные доклинические фармакокинетические исследования показали, что хризофанол лучше всасывается и медленнее выводится при более высоких концентрациях, чем некоторые другие антрахиноны, полученные из семейства Polygonaceae. [72] Распределение хризафанола в тканях находится в следующем порядке: почки > печень > сердце > мозг [73].

Наряду с уже имеющимися данными по токсичности хризофанола, остаются еще не изученные вопросы для понимания влияния хризофанола на организм. [74]. Результаты анализов выявили незначительное токсическое действие хризофанола. Пероральная токсичность хризафанола для крысиной модели и его способность вызывать раздражение глаз были предсказаны с помощью модуля LD₅₀ и модуля раздражения глаз пакета ТОРКАТ (прогнозирование токсичности с помощью компьютерной технологии). Полученное значение LD₅₀ для хризафанола составило 2,5 г/кг, что указывает на его токсичность только при очень высоких дозах. Результаты моделирования

раздражения глаз показали отсутствие раздражающего эффекта в двух моделях, однако небольшое раздражение было зафиксировано в третьей модели [75].

Таким образом, имеющиеся литературные данные не позволяют в полной мере утверждать о наличии фармакотоксичности или безопасности растительных экстрактов, содержащих хризфанол.

В связи с вышеизложенным, в рамках данной работы было проведено изучение токсикологических свойств антрахинон-флавоноидного комплекса на основе *R. tianschanicus* L. в опытах острой и хронической токсичности на белых лабораторных крысах.

1.3 Современные представления о патогенезе гастрита и язвенной болезни желудка

Язва желудка — поражение слизистой оболочки желудка, сопровождающееся образованием полости на внутренней поверхности ткани в результате повреждения, обычно вызванного воспалением [76].

Язва, развивающаяся внутри желудка, может распространяться на собственный мышечный слой желудочного эпителия в результате дисбаланса между агрессивными факторами и защитными барьерами слизистой оболочки, характеризующегося нарушением внутренней оболочки желудочно-кишечного тракта из-за секреции желудочной кислоты или пепсина [77, 78].

Распространенные желудочно-кишечные расстройства развиваются на фоне инфекций *Helicobacter pylori*, приема нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), рефлюкса [79, 80]. Как известно, защитные факторы, такие как муцин, бикарбонат и простагландины помогают сохранить целостность и функцию слизистой оболочки желудка. Нарушения физиологических функций указанных факторов, усугубляемые такими переменными, как стресс, и длительное применение НПВП, приводит к язвам, которые чаще всего рецидивируют на протяжении всей жизни [81]. В нормальных условиях обильная желудочная секреция слизи, стимулируемая простагландинами (ПГ), обеспечивает широкую защиту слизистой оболочки желудка от повреждения агрессивными агентами [82]. ПГ представляют собой серию гормоноподобных химических веществ, которые играют решающую роль в регуляции физиологической активности. Они синтезируются в организме в три основные фазы: (I) высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов фосфолипазой-A2; (II) окисление арахидоновой кислоты изоформами 1 и 2 циклооксигеназы (ЦОГ) до ПГ2, затем переоксиляется до ПГН2 (H2-блокаторы гистаминовых рецепторов) [83].

Таким образом, в эпителиальных клетках кишечника (ЭКК) основная функция ПГЕ2 заключается в обеспечении и регулировании секреции слизи для защиты слизистой оболочки желудка и поддержания ее целостности на исходном уровне [84, 85]. В этом процессе можно сказать, что ключевыми ферментами являются изоформы ЦОГ: ЦОГ-1 и ЦОГ-2. ЦОГ-1, называемый конститутивным, отвечает за выработку поддерживающих простагландинов, тогда как ЦОГ-2, называемый индуцибельным, положительно регулируется во время воспалительных процессов [86].

Примечательно, что НПВП, часто назначаемые для лечения таких заболеваний, как артрит, сердечно-сосудистые заболевания, колоректальный рак и профилактика болезни Альцгеймера, были преобладающими агентами, способствующими образованию язвы, ярким примером которых является индометацин [87, 88, 89].

Индометацин — это препарат НПВП, используемый в качестве обезболивающего и противовоспалительного средства [90]. Использование НПВП, таких как индометацин, обычно вызывает язву желудка, разрушая естественный барьер слизистой оболочки желудка, состоящий из гидрофобной слизи и бикарбонатов. Ингибирование фермента циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1) нарушает цитопротекторный синтез простагландинов [91 – 94]. Кроме того, введение индометацин стимулирует выработку активных форм кислорода (комплекс), что вызывает окислительный стресс и приводит к повреждению желудка [95]. Окислительный стресс инициирует многочисленные транскрипционные факторы и приводит к различным хроническим заболеваниям. Сообщалось, что избыточное количество комплекса, образующихся в ходе окислительного метаболизма, инициирует воспалительный процесс и способствует активации фактора некроза опухоли- α (TNF- α) как провоспалительного цитокина [96].

Таким образом, по данным авторов, индометацин (НПВП) вызывает повреждение слизистой оболочки желудка путем активации воспалительных клеток, выработки противовоспалительных цитокинов и индукции окислительного стресса [65, 66]. В нашем эксперименте индометацин индуцировал язву желудка, поскольку он является принятой, стандартной экспериментальной моделью и эффективно вызывает повреждение слизистой оболочки желудка.

1.4 Характеристика современных лекарственных средств, используемых для профилактики и терапии заболеваний желудка

Наиболее распространенными средствами в терапии патологий желудка и двенадцатиперстной кишки являются антациды и антисекреторные средства, включающие селективные и неселективные холиноблокаторы, антагонисты H₂ рецепторов гистамина и ИПП [97].

Антагонисты H₂-рецепторов (циметидин, ранитидин, фамотидин) избирательно блокируют гистаминовые рецепторы обкладочных клеток, препятствуя активации секреции кислоты гистамином, выделяемым энтерохромаффинноподобными клетками желудка. При применении средств этой фармакологической группы уменьшается как общее количество желудочного сока, так и его кислотность, причем, снижение концентрации H⁺ может достигать 68% [98].

Помимо антисекреторного действия H₂-блокаторам свойственна и прямая антиоксидантная активность. В клинической практике H₂-гистаминоблокаторы зарекомендовали себя как достаточно безопасные средства, но их длительное применение могут дать побочные эффекты. Например, препараты новых поколений как ранитидин и фамотидина основными побочными эффектами

являются головная боль и головокружение, запор и диарея, кожная сыпь [99]. Существенным недостатком, прежде всего, является постепенное уменьшение плотности гистаминовых рецепторов, которое приводит к развитию привыкания и возникновению секреторной отдачи при резкой отмене препарата, что может спровоцировать рецидив язвенной болезни [100].

Еще одним источником неблагоприятных последствий, характерным для всех антисекреторных средств, является устойчивая фармакогенная гипохлоргидрия, создающие условия для распространения различных болезнетворных бактерий в условиях недостаточных антисептических свойств желудочного сока. В результате в небольшом проценте случаев у пациентов может наблюдаться энтерит, бактериальный перитонит, печеночная энцефалопатия, чаще – аспирационная пневмония [101, 102].

Наиболее эффективными антисекреторными агентами являются ИПП: омепразол, эзомепразол, пантопразол, лансопразол, рабепразол. Омепразол и другие препараты этой группы представляют собой пролекарства, являющиеся липофильными основаниями, и приобретающие активность в кислой среде секреторных канальцев обкладочных клеток. В результате внутримолекулярной перестройки, происходящей при низких значениях pH внутри париетальных клеток, омепразол переходит в форму тетрациклического сульфенамида, который ковалентно взаимодействует с остатками цистеина протонной помпы, в результате чего происходит необратимое ингибирование фермента. В случае других ИПП блокада протонного насоса носит обратимый характер [103, 104].

Эффективность ИПП в качестве профилактических средств, предотвращающих развитие язв различного генеза, в частности, их высокая активность в отношении язв, индуцированных НПВС, доказана клинически [105].

На основании сведений о механизме токсического действия НПВС можно заключить, что способность ИПП предотвращать повреждение СОЖ обусловлена уменьшением агрессивных свойств желудочного сока, воздействующего на поврежденные НПВС ткани. Также, возможно, за счет снижения кислотности желудочного сока снижается способность НПВС к образованию протонированной формы, которая, будучи более липофильной, проникает через клеточные мембраны и оказывает повреждающее действие [106].

Постоянное применение омепразола с условием высокой приверженности лечению позволяет существенно снизить риск желудочных кровотечений, наблюдающихся при длительной терапии НПВП и антитромботическими препаратами [107].

В целом, ИПП малотоксичны и в отличие от H₂-блокаторов, не вызывают синдрома отмены. В статистических исследованиях отмечается даже избыточное назначение омепразола без явных медицинских показаний, особенно больным пожилого возраста, в связи с эффективностью этого препарата в сочетании с безвредностью и дешевизной [108, 109].

Однако при назначении препаратов этой группы для длительного применения требуется периодический контроль состояния СОЖ, что связано с

развитием компенсаторной гипергастринемии. В экспериментах на монгольских песчанках было показано, что внутрижелудочное введение интактным животным омепразола в дозе 100 мг/кг не влияет на архитектуру собственной пластинки СОЖ, но при атрофическом гастрите, ассоциированном с *H. pylori*, потенцирует развитие аденокарциномы [110].

Установлена связь длительного приема ИПП с повышенным риском развития остеопороза. Так, например, было зарегистрировано у экспериментальных крыс, получавших омепразол в дозе 20 или 40 мг/кг в течение 4 недель, было отмечено замедление ремоделирования костной ткани, вероятно, ассоциированное с нарушением абсорбции кальция из пищеварительного тракта [111].

В целом, со снижением кислотности желудочного сока связано недостаточное поступление в организм из пищи многих микроэлементов: кальция, магния [112] и др.

Таким образом, недостаток питательных веществ, ассоциированный с нарушением желудочного пищеварения, может являться причиной пластической недостаточности всех органов и систем, в связи с чем увеличивается подверженность организма различным заболеваниям [113].

Исследования Сузуки Т. и др. показали, что комбинация вонопрозана и лафутидина, H₂-блокатора с гастропротекторными свойствами, описанными выше, позволяет как пролонгировать антисекреторный эффект, так и снизить секрецию гастрина [114]. Данный результат указывает на целесообразность сочетания в терапии кислотозависимых патологий желудочно-кишечного тракта антисекреторных и гастропротекторных средств.

С момента открытия гастропротекторного действия простагландинов в практику были введены их синтетические аналоги, обладающие большей химической устойчивостью и оральной биодоступностью по сравнению с оригинальными молекулами. Наибольшее распространение получили препараты мизопростол (простагландин E1) и энпростил (ПГЕ2), однако последний в связи с высокой частотой побочных эффектов и недостаточной эффективностью был исключен из клинической практики [115].

Мизопростол обладает выраженной гастропротекторной активностью в отношении экспериментальных язв, индуцированных индометацином [116] и этанолом [117], который был введен в дозах 10–100 мкг/кг. При этом наблюдается достоверно более выраженное сокращение площади повреждений, вызванных ульцерогенами, чем при введении омепразола в дозах до 50 мг/кг. Исследователи указывают, что по лечебному действию синтетические простагландины уступают антисекреторным средствам [118], однако на модели ацетатной язвы у крыс было показано, что мизопростол нивелирует эффект торможения регенераторного процесса, вызванный НПВС, и способствует развитию грануляционной ткани [119]. Эффективность мизопростала доказали и в клинических исследованиях. Так, мизопростол превосходит сукралфат по гастропротекторной активности в отношении НПВС-индуцированных язв у пациентов с артритом [120]. Однако частота его назначения и приверженность пациентов лечению в значительной степени ограничены такими часто

развивающимися побочными эффектами, как диарея и боли в животе. Вероятно, такое неблагоприятное влияние препарата обусловлено взаимодействием с EP4 рецепторами ПГЕ2, посредством активации которых усиливается секреция хлорид иона и снижается абсорбция NaCl в кишечнике [121]. Кроме того, следует учитывать, что активность простагландинов распространяется и на миометрий матки, в связи с чем препарат противопоказан при беременности или может быть назначен для медикаментозного аборта [122]. Следует, однако, отметить, что синтетические простагландины способствуют снижению избыточной продукции гастрина G-клетками желудка, вызванной долговременным применением ИПП [123]. Данный факт является еще одним свидетельством рациональности дополнения антисекреторной терапии гастропротекторными средствами, эффект которых так или иначе связан с простагландинами.

Таким образом, для большинства фармакологических препаратов, особенно при их длительном применении, характерны побочные эффекты, связанные с нарушением пищеварительных процессов желудочно-кишечной системы [124]. Значительно более безопасным и не менее эффективным при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта может быть применение фитопрепаратов [125]. В связи с этим признана актуальность проблемы разработки малотоксичных и высокоэффективных растительных препаратов для лечения патологий, связанных с воспалением и повреждением слизистой оболочки желудка [126].

Противоязвенное действие характерно для различных экстрактов и масел многих растений, оказывающих противовоспалительное, обволакивающее, вяжущее, анальгезирующее, антисептическое и регенеративное действие на СОЖ. В частности, лекарственные растения признаны естественным источником для различных методов лечения [127 – 129]. В настоящее время многие индивидуальные компоненты выделены из растительного сырья, и их биологическая активность определена в фармакологических тестах. Вещества с противоязвенной активностью были обнаружены среди лекарственных растений различных фенольных соединений, флавоноидов, антрахинонов и алкалоидов [130, 131].

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Сбор и обработка растительного материала. Идентификация и определение вида *Rumex tianschanicus* Losinsk

Растения *R. tianschanicus* L. – многолетнее дикорастущее травянистое растение из семейства гречишных – Polygonaceae. Произрастает по склонам гор и долинам горных рек, предпочитает высокогорную среду, на высоте от 1600 до 2800 метров над уровнем моря.

Экспериментальные растения *R. tianschanicus* L., отбирали на высоте 2250 м над уровнем моря в предгорьях Заилийского Алатау (43°07'31.5"с.ш., 77°05'03.2" в.д.) в разных периодах вегетации. Среднегодовая температура воздуха на этой высоте составляет днем +7.4°C, а ночью - 0.4°C. Видовая принадлежность отобранных растений подтверждена «Институтом ботаники и фитоинтродукции» КН МНВО РК (Приложения А). Растение собрано и обработано в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Республики Казахстан [132].

2.2 Методы определения фитохимического состава растения вида *R. tianschanicus* L.

Экстракция растительного сырья. Высушенные на воздухе корни (1 кг) дважды исчерпывающе экстрагировали 50%-ным этанолом в течение 72 ч при комнатной температуре. Экстракты объединяли и концентрировали в густой экстракт при пониженном давлении.

К полученному экстракту добавляли равный объем насыщенного раствора нитрата циркония для получения полифенольной (антрахинон-флавоноидной) фракции и отделяли образовавшийся осадок центрифугированием на центрифуге CN-650 HT Machinery (5000 об/мин). Цирконий удаляли из осадка добавлением 3%-ного раствора оксалата натрия до тех пор, пока раствор не становился прозрачным. Осадок оксалата циркония отделяли центрифугированием [178].

Количественное определение антрахинонов проводили по фармакопейной методике, в качестве стандарта для построения калибровочной кривой использовали $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ при 525 нм; флавоноиды оценивали методом дифференциальной спектрофотометрии с хлоридом алюминия при аналитической длине волны 430 нм, в пересчете на кверцетин; содержание танинов определяли фармакопейным методом (перманганометрическим методом) [133–135]. Для полного разделения полифенольного комплекса проводили последовательную экстракцию образовавшейся фракции 50%-ного этанольного экстракта бензолом и этилацетатом. Каждый экстракт отдельно упаривали досуха с помощью ротационного вакуумного испарителя при пониженном давлении и температуре не выше 45 °C. Полученные экстракты составили (23 г и 47 г соответственно). Каждую из полученных фракций подвергали тонкослойной (ТСХ) и бумажной хроматографии, а затем колоночной хроматографии для выделения ее основных компонентов.

Определение доброкачественности растительного сырья. Изучаемое ЛРС было заготовлено, высушено и измельчено согласно требованиям, указанным в нормативной документации. Показатели доброкачественности ЛРС были установлены по общепринятым методикам ГФ XIV и ГФ РК.

Определение влажности растительного сырья

Влажность лекарственного растительного сырья (ЛРС) – это тот объем гигроскопической влаги и летучих веществ в процентах, который определяется в растительном сырье при высушивании до постоянной массы [136].

Навеску сырья массой 3 г, помещали в предварительно высушенный и доведенный до постоянной массы бюкс с крышкой, и ставили в сушильный шкаф нагретый до 100-105 °С. Проводили высушивание до постоянной массы. Постоянная масса считается достигнутой, если разница между двумя последующими взвешиваниями после 30 мин высушивания и 30 мин охлаждения составляет не более 0,1 г.

Влажность сырья (X) в процентах вычисляют по формуле ниже:

$$X = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} 100 \quad (1)$$

где, m_0 – масса пустого бюкса (с крышкой), высушенного до постоянной массы, г; m_1 , m_2 – масса бюкса (с крышкой) с навеской сырья до и после высушивания соответственно, доведенные до постоянной массы, г.

Определение общей золы

Около 3-5 г измельченного сырья помещали в предварительно прокаленный и точно взвешенный фарфоровый тигель. Затем фарфоровый тигель с навеской сырья нагревали при низкой температуре, давая сырью сгореть. Оставшиеся частицы угля также сжигали при более низкой температуре; после того как уголь сгорит почти полностью, увеличивают пламя.

При неполном сгорании частиц угля остаток охлаждали, насыщенным раствором аммония нитрата, выпаривали на водяной бане и остаток прокаливали. Прокаливание вели при температуре слабого каления (около 490-530°C) до постоянной массы, избегая сплавления золы и спекания со стенками тигля.

Общую золу (X) в процентах вычисляют по формуле ниже:

$$X = \frac{m_2 \times 100 \times 100}{m_1 \times (100 - W)} 100 \quad (2)$$

где, m_1 - масса сырья, г; m_2 - масса золы, г; W - влажность сырья, %.

Определение сульфатной золы

Навеску препарата или измельченного сырья массой 1 г помещали в предварительно прокаленный и точно взвешенный фарфоровый тигель, смачивали 1 мл концентрированной серной кислоты и нагревали на песчаной

бане до удаления паров серной кислоты. После проводили прокаливание при температуре слабого каления (около 490-530°C) до постоянной массы, избегая спекания золы со стенками тигля. По окончании прокаливания тигель охлаждали в эксикаторе и взвешивали. В случае трудного прокаливания прибавляли концентрированной серной кислоты и сжигание повторяли [137].

Процентное содержание сульфатной золы (X), в абсолютно сухом сырье вычисляют по формуле ниже:

$$X = \frac{m_2 \times 100 \times 100}{m_1 \times (100 - W)} \quad (3)$$

где, m_1 - масса золы, г; m_2 - масса навески сырья, г; W- потеря в массе сырья при высушивании, %.

Определение золы нерастворимой в 10% кислоте хлороводородной

В фарфоровый тигель с общей золой прибавляют 15 мл 10% раствора хлороводородной кислоты, накрывают тигель часовым стеклом и нагревают 10 мин на водяной бане. Затем обмывая часовое стекло в тигель приливают 5 мл горячей воды. Полученную жидкость фильтруют через беззольный фильтр, перенося на него остаток горячей водой. Фильтр промывают до тех пор, пока не будет наблюдаться отрицательная реакция на хлориды, затем фильтр сушат при комнатной температуре, сжигают и прокаливают при температуре слабого каления (около 490-530°C), охлаждают в эксикаторе и проводят взвешивание [138].

Процентное содержание золы нерастворимой в 10% кислоте хлороводородной (X), в абсолютно сухом сырье вычисляют по формуле ниже:

$$X = \frac{(m_1 - m) \times 100 \times 100}{m_2 \times (100 - W)} \quad (4)$$

где, m_1 - масса золы, г; m - масса золы фильтра, г; m_2 - масса навески сырья, г; W- потеря в массе сырья при высушивании, %.

Определение минерального состава

Навеску измельченного сырья массой 3-5 г помещали в предварительно прокаленный и точно взвешенный фарфоровый тигель, распределяя вещество по дну.

Тигель нагревали при низкой температуре, давая веществу сгореть или улетучиться. При неполном сгорании частиц угля остаток охлаждали, смачивали водой или насыщенным раствором аммония нитрата, выпаривали на водяной бане и остаток прокаливали. В случае необходимости такую операцию повторяли несколько раз.

После проводили прокаливание при температуре слабого каления (около 490-530°C) до постоянной массы, избегая спекания золы со стенками тигля. По окончании прокаливания тигель охлаждали в эксикаторе и полученную золу сжигали при 600°C до получения равномерного серого окраса.

Окончательно осадок растворяли в 5 мл HNO_3 (1:1) при нагревании. Получившийся раствор, прогревали на плитке до влажных солей. Результат

растворяли в 10-15 мл 1н HCl или 1н HNO₃ и переносили в мерную колбу на 25мл, доводят объём до метки [139].

Определение общего содержания фенолов

Процедура определения общего содержания фенолов была основана на методике Cheung и соавт. Общее содержание фенолов выражали в миллиграммах эквивалентов галловой кислоты (ГК) на грамм сухого веса листьев. Свежеприготовленный 7,5% раствор карбоната натрия готовили, помещая 7,5 г Na₂CO₃ в мерную колбу и доводя объём до 100 мл дистиллированной водой. Стандартный раствор сравнения (раствор галловой кислоты) готовили растворением 100 мг галловой кислоты в дистиллированной воде до конечного объема 100 мл. После этого проводили серийные разведения для получения растворов галловой кислоты с концентрацией 100, 70, 50, 40 и 10 мкг/мл). Исходные растворы фракций листьев готовили растворением 100 мг растительного экстракта в дистиллированной воде до общего объема 100 мл. Реакционные смеси готовили смешиванием 0,5 мл раствора каждой фракции с 2,5 мл 10% реактива Фолина-Чокальтеу, который растворяли в воде с 2,5 мл 7,5% бикарбоната натрия. Пробирки с образцами инкубировали в течение 45 минут при 45°C. Затем оптическую плотность каждого измеряли на спектрофотометре при длине волны 765 нм. Рабочие образцы готовили в трех экземплярах для каждого аналитического испытания, на основе которых рассчитывали значения среднего и стандартного отклонения [140].

Определение общего содержания флавоноидов

Общее содержание флавоноидов в четырех фракциях листьев *R. tianschanicus* L. оценивали с использованием калибровочной кривой рутина (стандартного эталонного раствора). Результаты выражали в миллиграммах эквивалента рутина на грамм сухой массы экстракта листьев (мг рутина/г сухой массы). Калибровочную кривую для рутина строили с использованием серийных разведений, полученных из исходного раствора 100 мкг/мл. Для приготовления исходного раствора 10 мг рутина растворяли в 10 мл дистиллированной воды, а затем довели до 100 мл. Впоследствии исходный раствор разбавляли для получения рутина в концентрациях 10, 30, 40, 50, 70 и 100 мкг/мл. Для приготовления рабочего раствора по 0,5 мл раствора каждой фракции смешивали с 3 мл метанола, 0,2 мл 10% AlCl₃, 0,2 мл 1 М ацетата калия и 5 мл дистиллированной воды, а затем инкубировали при комнатной температуре 30 мин. Предыдущие этапы повторяли для каждой из фракций, после чего измеряли поглощение при длине волны 415 нм. Для холостого контроля вместо экстракта образца готовили рабочий раствор с использованием дистиллированной воды. Образцы готовили в трех экземплярах для каждого аналитического исследования, на основе которых рассчитывали значения среднего и стандартного отклонения [141].

Определение общего содержания танинов

Для определения общего содержания танинов в четырех фракциях листьев *R. tianschanicus* L. и является наиболее часто используемой процедурой. Катехин использовали в качестве эталонного соединения для построения калибровочной кривой. Готовили исходный раствор с концентрацией 100

мкг/мл в метаноле, из которого получали серию разведений для получения концентраций катехина 10, 30, 50, 70 и 100 мкг/мл. Готовили свежеприготовленный 4%-ный раствор ванилина в метаноле. Исходные растворы фракций с концентрацией 100 мкг/мл готовили с использованием метанола в качестве растворителя. Для получения рабочего раствора по 0,5 мл раствора каждой фракции смешивали с 3 мл раствора ванилина и 1,5 мл концентрированной HCl. Смесь оставляли на 15 минут, а затем измеряли поглощение при 500 нм, используя в качестве холостого раствора рабочий раствор, приготовленный с метанолом вместо экстракта образца. Все рабочие образцы были проанализированы в трех экземплярах, из которых были рассчитаны значения среднего и стандартного отклонения [142].

2.3 Определение летучих органических соединений методом газового хроматографа с масс – спектрометрическим детектированием

Компонентный состав эфирных масел был исследован на газовом хроматографе TRACE 1310 (Thermo Fisher Scientific, США) с тройным квадрупольным масс-спектрометрическим детектором TSQ 8000 (Thermo Fisher Scientific, США). Хроматографическое разделение осуществляли с использованием капиллярной колонки TG-5SILMS (30 м × 0.25 мм × 0.25 мкм). Газ-носитель – гелий с постоянным потоком 1 мл/мин. Начальная температура термостата колонок 70 °С с задержкой в 2 мин. Затем термостат нагревали до 200 °С со скоростью 5°С/мин с задержкой в 1 мин, нагревали до 285°С со скоростью 10°С/мин с задержкой 10 мин, с последующим уменьшением температуры до исходного состояния 70 °С. Температура инжектора 250 °С и масс-спектрометрического детектора 285 °С. Экстракт вводили в объеме 1 мкл в режиме с разделением (split) потока (split ratio 1:10). Режим ионизации EI, 70 эВ, температура источника ионов 230°С, режим сканирования Full scan в интервале пределов значений m/z 50-550. Процесс хроматографии контролировали с помощью программы XCalibur. Биологически активные соединения, извлеченные из двух экстракций, идентифицированы на основании времени удерживания ГХ на колонке с применением библиотеки эталонных масс-спектров с данными программного обеспечения компьютера природных соединений «NIST» (National Institute of Standardization & Technology (NIST) data for GC-MS systems) [143].

2.4 Методы определения токсичности экстракта *R. tianschanicus* L.

Все экспериментальные работы с лабораторными животными проводились после положительного решения этической комиссии РГП на ПХВ Института генетики и физиологии КН МНВО РК (Алматы, Казахстан). Срок действия с 01.09.2022 по 31.12.2025. Номер протокола №5. Приложение В.

Все исследования на животных проводились в соответствии с этическими принципами, а также Руководством «Правила проведения доклинических исследований, биомедицинских экспериментов и клинических исследований в Республике Казахстан» (от 25 июля 2007 г. № 442) [144].

Для определения экспериментальной дозы и токсичности экстракта

растения *R. tianschanicus* L. был использован сухой экстракт.

Изучение острой (n=45), хронической токсичности (n=45) экстракта, проводилось на белых беспородных лабораторных крысах. Животные содержались в клетках группами по 5 особей в каждой группе. В качестве подстилки использовали древесные опилки. Температура воздуха в помещениях вивария поддерживалась в диапазоне 18-20° С при относительной влажности 60-70%. Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях на рационе вивария.

Для оценки острой токсичности животным однократно перорально вводили БАК спиртового экстракта корней *R. tianschanicus* L. после чего проводили наблюдение в течение 24 часов, а для оценки хронической токсичности биологически активный комплекс вводили животным в течение 28 суток. Сухой экстракт предварительно растворяли в водном растворе твина.

Проводили визуально внешний осмотр животных, проводилось взвешивание и фиксация ВНД (высшая нервная деятельность) с помощью теста «открытое поле», так же в течение всего эксперимента измеряли массы животных в динамике.

Тест «открытое поле» предназначен для оценки выраженности и динамики отдельных поведенческих элементов, и уровня эмоциональноповеденческой реактивности животного в новых (стрессогенных) условиях. Животное помещали в камеру диаметром 100×100 см со стенками высотой 40 см. Полom служил лист белого пластика, на котором черной краской нанесена решетка, делящая поле на 25 (5×5) равных квадратов. Освещение производили лампой 50 Вт, расположенной на высоте 150 см над центром поля. Тест заключался в количественном измерении компонентов поведения животного, помещенного в новое открытое пространство (арену), выбраться из которого ему мешает огораживающая арену стенка. При тестировании животное помещали в центр арены и в течение 5 минут визуально оценивали следующие показатели: горизонтальную двигательную активность – пробег (количество пройденных секторов), вертикальную двигательную активность – стойки (число подъемов на задние лапы), отходы от стенки арены (число пересечений внешней концентрической окружности), выходы в центр арены (число пересечений внутренней окружности), груминг (число касаний морды лапами, почесывания), при исследовании фармпрепаратов использовали бесстрессорную модификацию «открытого поля». Основным способом фиксации результатов теста выступало сплошное или выборочное протоколирование с повременной регистрацией активности животного. После 5 мин исследования животное возвращали в клетку. Подсчитывали число катышков помета. Тестирование повторяли в одно и то же время на протяжении четырех последующих дней. Перед началом введения фитокомплекса, а также в динамике наблюдения для каждой опытной группы были проведены тесты по методике «Открытое поле» в течение 3-х дней для определения индивидуально-типологических особенностей высшей нервной деятельности (ВНД) и после окончания приема комплекса также были проведены тесты для всех животных в течение 3-х дней для определения влияния препарата.

После завершения эксперимента оценивали макроморфологические состояние органов. Эксперимент по хронической токсичности был завершён забоем животных для получения образцов периферической крови, которые в дальнейшем послужили материалом для проведения гематологического и биохимического анализа крови (оценка функции печени, почек, поджелудочной железы по показателям белкового, углеводного, липидного и пигментного видов обмена, костного мозга, а также наличия интоксикации) а также количественного анализа форменных элементов костного мозга.

2.5 Методы гематологического и биохимического исследования

Проведение гематологического анализа.

После завершения экспериментов животные были анестезированы с использованием хлороформного наркоза. У всех животных были взяты забор крови в вакуумные контейнеры, содержащие антикоагулянт КЗ ЭДТА. Процедура проводилась в строгих стерильных условиях для предотвращения возможного загрязнения образцов и обеспечения их целостности для последующего лабораторного анализа. Результаты по общему анализу крови были получены на гематологическом анализаторе Sysmex KX-21 (Япония), включающим в себя 18 параметров счета: эритроциты ($10^{12}/л$), лейкоциты ($10^9/л$), тромбоциты ($10^9/л$), гемоглобин (г/л), гематокрит (л/л), эритроцитарные индексы (фЛ), тромбоцитарные индексы (фЛ), лимфоциты, нейтрофилы, смешанные клетки (% и $10^9/л$).

Проведение биохимических видов исследований.

После завершения экспериментов у всех животных проводили забор крови в вакуумные контейнеры, содержащие активатор свертывания с разделительным гелем. Образцы (кровь) центрифугировали 20 минут при 1000 об/мин для получения сыворотки. В плазме крови, с использованием коммерческих наборов BioChem FC-200 (США), были изучены основные биохимические показатели: альбумин (г/л), общий белок (г/л), мочевины (ммоль/л), креатинин (мкмоль/л), мочевая кислота (мкмоль/л), общий билирубин (мкмоль/л), прямой билирубин (мкмоль/л), непрямой билирубин (мкмоль/л), щелочная фосфатаза (Ед/Л), аланинаминотрансфераза (Ед/Л), аспаратаминотрансфераза (Ед/Л), глюкоза (ммоль/л), холестерин (ммоль/л), липопротеины высокой плотности (ммоль/л), липопротеины низкой плотности (ммоль/л), триглицериды (ммоль/л).

2.6 Метод количественной оценки форменных элементов костного мозга (миелограмма)

Костный мозг извлекали из левой и правой берцовой кости. После того как кость была аккуратно рассечена, нижнюю часть большеберцовой кости сжимали тонкими щипцами. Толстый розовый костный мозг сломанного верхнего конца был взят и помещен на предметное стекло.

В качестве разбавителя добавляли каплю физиологического раствора и аккуратно смешивали с костным мозгом. При окраске тонких мазков азур-эозином и Майн-Грюнвальдом (модификация Паппенгейма) придерживались

рекомендаций Гимзы. Сначала на мазок наносят подходящее количество неразбавленного красителя Май-Грюнвальда, через 3 минуты пятно со стекла сливают, а мазок окрашивают в течение 10-12 мин раствором красителя Гимзы, а затем ополаскивают чистой водопроводной водой. Этот подход Мэй-Грюнвальда сочетает в себе способность обнаруживать зернистость клеток с очевидным окрашиванием структуры ядра раствором Гимзы. Далее было обнаружено и подсчитано несколько сотен клеток. [145]. Каждый образец анализировали и подсчитывали клетки с помощью микроскопа Micro Opix MX 700 (T) (West Medica, Brown Boveri-StaBe 6, B17-1 2351 Wiener Neudorf, Австрия) с HD-камерой CAM V1200C (West Medica, Brown Boveri-StaBe 6, B17-1 2351 Винер-Нойдорф, Австрия).

2.7 Экспериментальные модели

2.7.1 Язва желудка, индуцированная индометацином

Индометациновую язву желудка моделировали на 36 крысах по стандартной методике (Derelanko M.G., Long G.T., 1980) путем однократного внутрижелудочного введения индометацина (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.) в дозе 25 мг/ кг. Животных рандомизировали по массе и разделяли на группы по 6 особей. Животных за сутки лишали пищи и через сутки воспроизводили модель язвы.

Экстракт комплекса вводили животным натошак внутрижелудочно в дозе 100 мг/кг в водно-твиновой смеси. Средняя эффективная доза (100 мг/кг) была выбрана в результате экспериментальных исследований.

Группа 1. Контрольная группа — внутрижелудочно вводили водно-твинную смесь.

Группа 2. Группа негативный контроль с язвой без лечения.

Группа 3. Профилактическое введение экстракта *R. tianschanicus* L. в дозе 100 мг/кг.

Группа 4. Опытная группа, которой вводили экстракт *R. tianschanicus* в дозе 100 мг/кг однократно и через час животным вводили индометацин в дозе 25 мг/кг перорально.

Группа 5. Опытная группа, которой вводили экстракт *R. tianschanicus* L. в дозе 100 мг/кг в течение 10 дней (длительный эффект) и на 11 день через час животным вводили индометацин в дозе 25 мг/кг перорально.

После завершения эксперимента животных подвергали эвтаназии хлороформа. Желудки извлекали и вскрывали по малой кривизне для оценки общего состояния слизистой оболочки желудка и подсчета количества язвенных дефектов. Также оценивалось наличие макроскопических изменений в структуре желудка, печени, почек, сердца и поджелудочной железы. Затем материал фиксировали в 10% нейтральном формалине.

По результатам исследования желудков экспериментальных животных рассчитывали индекс противоязвенной активности (ПА) экстракта.

Индекс Паулса (ИП) рассчитывали для каждой экспериментальной группы по следующей формуле:

$$\text{ИП} = \frac{A \times B}{100}, \quad (5)$$

где А – среднее количество язвенных дефектов, приходящихся на одно животное; В – процент животных с язвами в группе.

Индекс противоязвенной активности рассчитывали, как отношение индекса Паулса для контрольной группы к индексу опытной группы:

$$\text{ПА} = \frac{\text{ИП}_{\text{контроль}}}{\text{ИП}_{\text{опыт}}} \quad (6)$$

Вещества, индекс ПА которых больше, либо равен 2 единицам, считали обладающими антиульцерогенной активностью [146, 147].

2.7.2. Воспалительный отек лапы, индуцированный гистамином

Модель гистаминового воспалительного отека воспроизводили на 72 мышах обоего пола согласно руководству [148]. Животные были разделены на группы по 8 особей. Исследуемые соединения вводили мышам натошак внутривентрально в дозе 100 мг/кг. Животным группы сравнения перорально вводили лекарственный препарат Диклофенак («Хемофарм», Россия) в терапевтической дозе 10 мг/кг. Через час моделировали воспалительный отек путем субплантарного введения в заднюю лапу 0,05 мл 0,01%-ого раствора гистамина дигидрохлорида («ICN Biomedicals», США). Через два часа и пять часов после введения флоггена оценивали разницу масс воспаленной и интактной задних лап животных и рассчитывали процент воспалительного отека (ВО) по следующей формуле:

$$\text{ВО} = \frac{M_{\text{в}} - M_{\text{к}}}{M_{\text{к}}} \times 100, \quad (7)$$

Где, $M_{\text{в}}$ – масса воспаленной лапы, $M_{\text{к}}$ – масса интактной (контрольной) лапы.

2.7.3 Воспалительный отек лапы, индуцированный формалином

Для воспроизведения модели формалинового отека по стандартной методике [149]. 72 самца мышей были разделены на группы по 8 особей. Исследуемый экстракт вводили мышам натошак внутривентрально в дозе 100 мг/кг. Животным группы сравнения перорально вводили лекарственный препарат Диклофенак («Хемофарм», Россия) в терапевтической дозе 10 мг/кг. Через час моделировали воспалительный отек путем субплантарного введения 0,05 мл 1%-ого раствора формалина в заднюю лапу мыши. Разницу масс воспаленной и интактной лап животных оценивали через пять часов после введения формалина. Процент воспалительного отека определяли по формуле, указанной в разделе 2.7.2.

В качестве препаратов сравнения использовали фармакопейный препарат диклофенак («Хемофарм», Россия) в дозе 10 мг/кг. Референсный препарат

вводили животным внутривенно в водно-твиновой смеси. Дозы препаратов взяты из литературных данных [150 – 152].

2.8 Методы гистологического исследования

Материал, полученный для морфологического исследования, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 5 суток, затем вырезали из органов образцы толщиной 5–7 мм и подвергали стандартной обработке на аппарате НМР110 гистологического комплекса MICROM («Carl Zeiss», Германия) по следующему протоколу:

Этанол 60° – 30 мин;
Этанол 70° – 1 час;
Этанол 80° – 1 час;
Этанол 96° – 1 час 10 мин;
Бутанол – 1 час;
Этанол-ксилол – 30 мин;
Ксилол I – 40 мин;
Ксилол II – 40 мин;

Гистопласт I – 3 часа при $t^{\circ}=60^{\circ}\text{C}$; 10. Гистопласт II – 5 часов при $t^{\circ}=60^{\circ}\text{C}$.

Заливку в парафиновые блоки проводили на станции AP 280 с использованием гистопласта с t° плавления 58°C . Срезы толщиной 4–5 мкм изготавливали на ротационном микротоме НМ 335Е с использованием одноразовых сменных лезвий. Окраску гематоксилином Лилли–Майера и 1% эозином [158] проводили на автомате HMS 70, после чего окрашенные срезы заключали в бальзам Витрогель.

2.9 Методы определения антиоксидантной активности

Спектрофотометрический метод DPPH (ДФПГ). Изучение DPPH теста проводилось спектрофотометрическим методом со спиртовым раствором радикала DPPH при длине волны 517 нм, по общепринятой методике (Blois, 1958), с небольшими модификациями. Метод основан на взаимодействии антиоксидантов со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (ДФПГ/DPPH). Вкратце, 40 мкл растворов образцов при различных концентрациях добавляли к 160 мкл раствора DPPH (0,4 мМ, приготовленного в метаноле). После тридцати минут в темноте оптическую плотность измеряли при 517 нм с использованием 96-луночного ридера для микропланшетов. Бутилгидроксианизол (БГА) и α -токоферол использованы в качестве эталонных соединений.

Определение АОА на модели с β -каротин-линолевой кислотой. Оценка ингибирующей активности перекисного окисления липидов проводилась с использованием тест-системы β -каротин-линолевая кислота [153]. Сущность метода окисления эмульсии β -каротин-линолевая кислота заключается в следующем: во время окисления линолевой кислоты образуются свободные радикалы, которые атакуют высоконенасыщенную молекулу β -каротина, за счет чего последний теряет оранжевую окраску. В присутствии антиоксидантов свободные радикалы нейтрализуются и степень обесцвечивания β -каротина

намного меньше. Исходный раствор смеси β -каротина, линолевой кислоты готовили следующим образом: 0,5 мг β -каротина растворяли в 1 мл хлороформа и добавляли 25 мкл линолевой кислоты и 200 мг смеси эмульгатора Tween-40. После выпаривания хлороформа в вакууме при интенсивном встряхивании добавляли 100 мл дистиллированной воды, насыщенной кислородом. 160 мкл этой смеси переносили в 40 мкл образцов при различных концентрациях. Эмульсию быстро добавляли в каждую пробирку, нулевое время поглощения измеряли при 470 нм с использованием 96-луночного ридера для микропланшетов. Поглощение эмульсии снова измеряли при той же длине волны после инкубации планшета в течение 2 часов при 50 °С. Бутилгидроксианизол (БГА) и α -токоферол использованы в качестве стандартов антиоксидантов для сравнения активности.

Метод обесцвечивания ABTS -катион-радикала. Активность очистки $ABTS^{\cdot+}$ определяли спектрофотометрически, как описано в методике Ре и др. [154] с некоторыми модификациями [155]. Получение ABTS осуществляли реакцией между 7 mM ABTS [диаммониевая соль 2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиоэалин-6-сульфоновой кислоты)] в H_2O и 2,45 mM персульфатом калия, хранящимся в темноте при комнатной температуре в течение 12 ч. Затем к раствору образца (40 мкл) добавляли раствор ABTS (160 мкл) в различных концентрациях. Через 10 мин поглощение измеряли при 734 нм с помощью 96-луночного считывателя микропланшетов. В качестве антиоксидантных стандартов использованы бутилгидроксианизол (БГА) и α -токоферол.

Хелатирующая активность ионов железа. Хелатирующую активность экстрактов по отношению к Fe^{2+} измеряли, как сообщили Decker и Welch [156], с небольшими изменениями. Раствор экстракта (80 мкл) добавляли к 40 мкл (0,2 mM) $FeCl_2$. Затем добавляли 80 мкл 0,5 mM феррена. Смесь интенсивно встряхивали и оставляли при комнатной температуре на 10 мин. После этого измеряли оптическую плотность при 593 нм.

Метод CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity assay) основан на способности АО взаимодействовать с комплексом $Cu(II)$ – неocupроин. При этом $Cu(II)$ восстанавливается до $Cu(I)$ и образует с неocupроином окрашенный комплекс (максимум поглощения в области 450 нм).

Антиоксидантная способность восстанавливать медь определялась по методу Arafat et al. [157], с небольшими изменениями. Вкратце, 50 мкл растворов $Cu(II)$ (10 mM), 50 мкл неocupроина (7,5 mM) и 60 мкл растворов NH_4Ac (1 M, pH 7,0) добавляли в каждую лунку 96-луночного микропланшета. К исходной смеси добавляли сорок микролитров экстракта разной концентрации. Через 1 час оптическую плотность регистрировали против холостого опыта при 450 нм с использованием 96-луночного ридера для микропланшетов.

Результаты сравнивали с результатами для бутилгидроксианизол (БГА) и α -токоферола, используемых в качестве стандартов антиоксидантов.

2.10 Статистическая обработка результатов

Обработку данных проводили с помощью программы «Statistica 10.0» в пакете программ MS Office Excel 2010 (Microsoft Corp., Редмонд, Вашингтон, США). Для анализа различных значений между образцами использовали t-критерий Стьюдента при $p < 0,05$ (Statistica 12, StatSoft Inc., Талса, США). Атипичные значения, основанные на данных, были исключены из t-критерия данных. Рассчитывали стандартную ошибку выборочного среднего. На графиках показаны средние значения со стандартными планками ошибок. Знаки * и ** указывают на достоверность результатов при уровне значимости 0,05 и 0,01 соответственно.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Изучение фитохимического состава БАК на основе корней *R. tianschanicus* L.

Макро – и микроэлементный состав корней и корневищ *R. tianschanicus* L. Содержание макро- и микроэлементов в корнях и корневищах *R. tianschanicus* L. был исследован методом атомно-абсорбционной спектроскопии.

Результаты количественного анализа микро- и макроэлементов приведены в таблицах 1-2.

Таблица 1 - Количественное содержание макроэлементов в корнях и корневищах *R. tianschanicus* L.

Исследуемый объект	Элементы, %			
	K	Na	Ca*	Mg
Корни <i>R. tianschanicus</i> L.	0,32	0,21	0,74	0,065
Примечание: * - преимущественное содержание				

Таблица 2 - Количественное содержание микроэлементов в корнях и корневищах *R. tianschanicus* L.

Исследуемый объект	Элементы, %						
	Zn	Mn	Ni	Fe*	Pb	Cd	Cu
Корни <i>R. tianschanicus</i> L.	0,028	0,067	0,0024	0,48	0,0012	0,0017	0,0041
Примечание: * - преимущественное содержание							

Исходя из данных количественного анализа минерального состава, приведенных в таблицах 1 и 2, можно сделать вывод, что в корнях и корневищах *R. tianschanicus* L. из макроэлементов преобладает кальций. Этот химический элемент содержится в костях и зубах, являясь важнейшим строительным материалом. Более того, некоторое его количество присутствует в крови.

Следовательно, корни и корневища растения *R. tianschanicus* L. можно рассматривать как источник минеральных веществ.

Качественный и количественный анализ основных групп БАВ корней Rumex L.

Для определения доброкачественности корней и корневищ *R. tianschanicus* L. по общепринятым методикам Государственной Фармакопеи Казахстана и Государственной фармакопеи XI-го издания [35-36] определены следующие показатели: потеря в массе при высушивании, общая зола, зола нерастворимая в 10% соляной кислоте и экстрактивные вещества. Результаты представлены в таблице 3.

Доброкачественность – соответствие лекарственного растительного сырья требованиям нормативной документации. Доброкачественность ЛРС обуславливается количеством действующих веществ, чистотой сырья, степенью измельченности (для цельного сырья), влажностью и содержанием золы.

Согласно методикам, указанным в ГФ РФ и РК были установлены показатели доброкачественности, если быть точнее, то влажность, общая зола, сульфатная зола, зола нерастворимая в 10% кислоте хлороводородной. Результаты приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Показатели доброкачественности корней и корневищ *R. tianschanicus* L.

Показатель	Содержание, %
Влажность	8,6%
Общая зола	6,79%
Сульфатная зола	4,84%
Зола нерастворимая в 10 % HCl	1,04%

Исходя из данных, представленных в таблице 3, можно заключить, что показатели доброкачественности образца находятся в пределах, установленных нормативными документами Республики Казахстан. В частности, уровень влажности составляет 8,6%, что соответствует установленным стандартам. Общая зола зафиксирована на уровне 6,79%, из которых сульфатная зола составляет 4,84%. Нерастворимая в 10% HCl зола составляет 1,04%. Эти результаты подтверждают соответствие образца нормативным требованиям, что указывает на его высокое качество и пригодность для дальнейшего использования.

Определение суммы экстрактивных веществ в корнях растения R. tianschanicus L. Экстрактивность лекарственного растительного сырья является важным показателем при выборе и оценке растительного сырья. Экстрактивность зависит от многих факторов, таких как тип растения, метод сбора и хранения сырья, используемый метод экстракции и условия его

проведения. Содержание экстрактивных веществ растительного сырья должно лежать в пределах, указанных в нормативных документах.

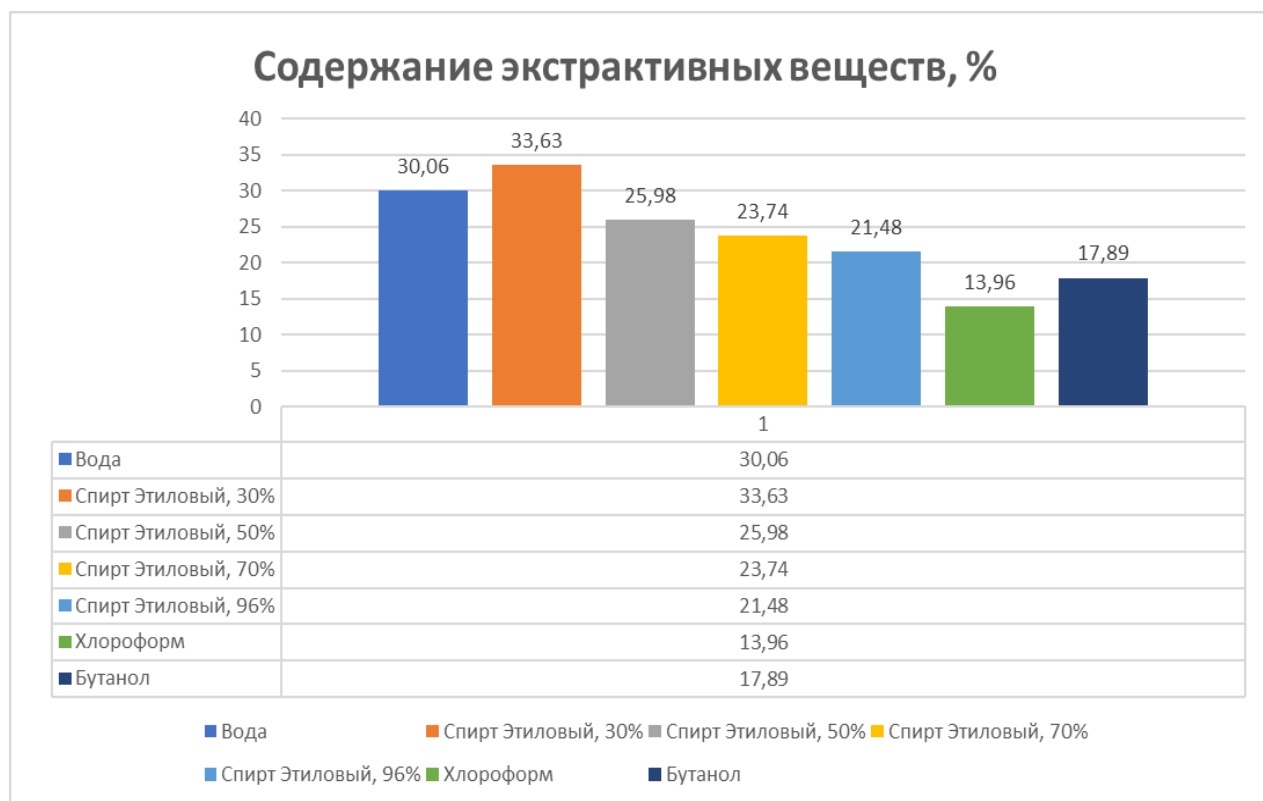


Рисунок 1 – Содержание суммы экстрактивных веществ в корнях *R. tianschanicus* L.

Из рисунка 1 можно сделать заключение, что из 7 апробированных растворителей, оптимальным экстрагентом для корней и корневищ щавеля тяньшанского является 30% этиловый спирт, так как он извлекает до 40% всех групп БАВ.

В состав фитокомплекса входят фенолы, антрахиноны, флавоноиды и их гликозиды, феноло- и аминокислоты, дубильные вещества. Качественными реакциями с использованием специфических проявителей также обнаружены полисахариды.

Отличаются данные полифенольные комплексы количественным содержанием основных групп БАВ, а также по набору компонентного состава основных групп БАВ.

Анализ биологически активного комплекса из корней казахстанского вида R. tianschanicus L.

Идентификация компонентов всех групп соединений осуществлялась методом одномерной хроматографии на бумаге и в тонком слое сорбента с использованием специфических проявителей и сравнением с метчиками-стандартами углеводов, флавоноидов и антрахинонов. В полифенольных комплексах идентифицировано 2 углевода – сахароза, глюкоза; 3 антрахинона – хризофанол, эмодин и фисцион; 3 флавоноида – кверцетин, мирицетин, рутин.

По общепринятым методикам Государственной Фармакопеи Казахстана и Государственной Фармакопеи ГФ РФ XIV определено количественное содержание действующих групп БАВ. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Данные количественного анализа групп БАВ полифенольных комплексов из корней *R. tianschanicus* L., %

Группа БАВ	Корни <i>R. tianschanicus</i> L.
Флавоноиды	6,95
Сумма фенолов и фенолокислот	12,47
Антрахиноны	1,77
Дубильные вещества	12,36
Аминокислоты	13,39
Полисахариды	0,63

Как показано в таблице 4, полифенольный комплекс полученный из корней *R. tianschanicus* L содержит следующие компоненты: флавоноиды — 6,95 %, сумма фенолов и фенолокислот — 12,47 %, антрахиноны — 1,77 %, дубильные вещества — 12,36 %, аминокислоты — 13,39 %, полисахариды — 0,63 %. На основе данных таблицы 4, можно сделать заключение о том, что в полифенольном комплексе, полученном из корней *R. tianschanicus* по количественному содержанию доминируют сумма дубильных веществ и флавоноидов [178].

*Исследование липофильного состава хлороформного комплекса, полученного из корней и корневищ *Rumex tianschanicus* L. методом хромато-масс-спектрометрии.*

Хромато-масс-спектрометрия является гибридным методом анализа, по этой причине, он должен рассматриваться как сочетание хроматографии (газовой или жидкостной) и масс-спектрометрии. Процессы разделения и анализа здесь протекают совершенно независимо друг от друга.

Анализ исследуемого комплекса проводился методом газового хромато – масс – спектрального анализа, результаты которого указаны в таблицах 5 и показаны на рисунке 1.

RT: 0.00 - 75.41

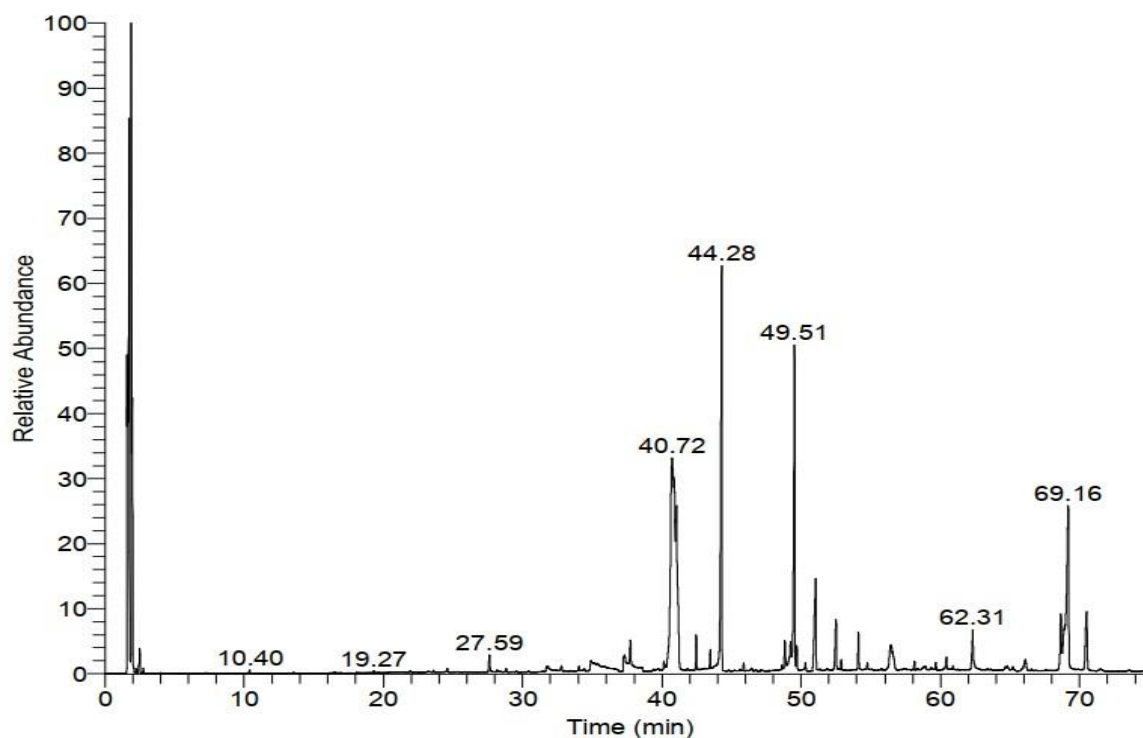


Рисунок 2 – Хроматограмма комплекса из корней *Rumex tianschanicus* L.

Таблица 5 - Список соединений, обнаруженных в хлороформном комплексе *R. tianschanicus* L.

Время удерживания	Наименование компонентов	Химическая формула	Мол. масса	корень, %
10.40	Гексановая кислота, производное ТМС	$C_9H_{20}O_2$	188	0,12
19.28	Нонановая кислота, производное ТМС	$C_{12}H_{26}O_2$	230	0,2
21.94	Декановая кислота, производное ТМС	$C_{13}H_{28}O_2$	244	0,24
24.57	10-ундециновая кислота, производное ТМС	$C_{14}H_{26}O_2$	254	0,31
27.59	Пламбагин	$C_{11}H_8O_3$	188	1,54
31.72	Арабинофураноза, (триметилсилил)-	$C_{17}H_{42}O_5$	438	0,22
34.03	Этанон, 1-(2,4,5-триэтилфенил)-	$C_{14}H_{20}O_2$	204	0,25
38.59	Валереновая кислота, триметилсилиловый эфир	$C_{18}H_{30}O_2$	306	1,24
40.72	Галловая кислота	$C_{19}H_{38}O_5$	458	15,5
42.47	1,4-Нафталендион, 2-(1-бутенил)-3-гидрокси-	$C_{14}H_{12}O_3$	228	1,24

Продолжение таблицы 5

44.28	Пальмитиновая кислота	$C_{19}H_{40}O_2$	328	23,1
45.87	10-октадеценовая кислота, метилловый эфир	$C_{19}H_{36}O_2$	296	0,35
47.66	Метилглихолат	$C_{36}H_{69}NO_6$	695	0,11
48.84	Изопропил 24-метилпентакос-5,9- диеноат	$C_{29}H_{54}O_2$	434	0,21
49.51	Олеиновая кислота	$C_{21}H_{42}O_2$	354	18,3
50.30	Стеариновая кислота	$C_{21}H_{44}O_2$	356	0,11
51.05	Оксиметазолин	$C_{16}H_{24}N_2O$	260	4,2
51.36	Форбол	$C_{20}H_{28}O_6$	364	1,3
52.49	9,10-Антрацендион, 1,8-дигидрокси-3-метил	$C_{15}H_{10}O_4$	254	3,5
52.86	Дигексиловый эфир 1,2- бензолдикарбоновой кислоты	$C_{20}H_{30}O_4$	334	2,4
54.12	4Н-1-бензопиран-4-он, 5,7-дигидрокси-2-(3-гидрокси-4,5- диметокси фенил)-6,8-диметокси	$C_{19}H_{18}O_9$	390	0,5
54.73	Кринан-1-ол,7-метокси-, (1a)	$C_{17}H_{21}NO_4$	303	1,7
56.43	D-(+)-Тураноза, октакис(триметилсилил) эфир	$C_{36}H_{86}O_{11}$	918	1,3
58.11	Моно(2-этилгексил)фталат	$C_{16}H_{22}O_4$	278	1,1
59.66	1-монопальмитин, производное	$C_{25}H_{54}O_4$	474	1,5
60.43	9,10-Антрацендион, 1,8-дигидрокси-3-метокси-6- метил-	$C_{16}H_{12}O_5$	284	1,1
62.31	Подокарпа-1,8,11,13-тетраен-3-он, 14-изопропил-1,13-диметокси	$C_{22}H_{30}O_3$	342	0,36
64.82	1-моноолеоилглицерин, производное	$C_{27}H_{56}O_4$	500	0,75
65.18	2,4-имидазолидиндион, 5-[3,4- бис[(триметилсилил)окси]фенил]- 3-метил-5-фенил-1	$C_{25}H_{40}N_2O_4$	516	0,8
67.57	Триптофенолид, трет- бутилдиметилсилил эфир	$C_{26}H_{38}O_3$	426	0,5
68.67	Синапиновая кислота, производное	$C_{23}H_{40}O_5$	452	1,2
69.17	Катехин (2R-E)-, производное	$C_{30}H_{54}O_6$	650	11,8

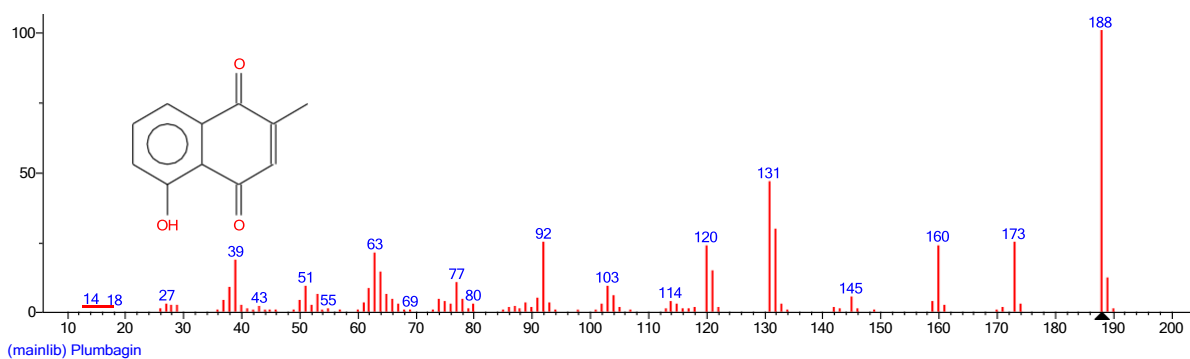


Рисунок 3 – Масс – спектр пламбагина (27,59 мин)

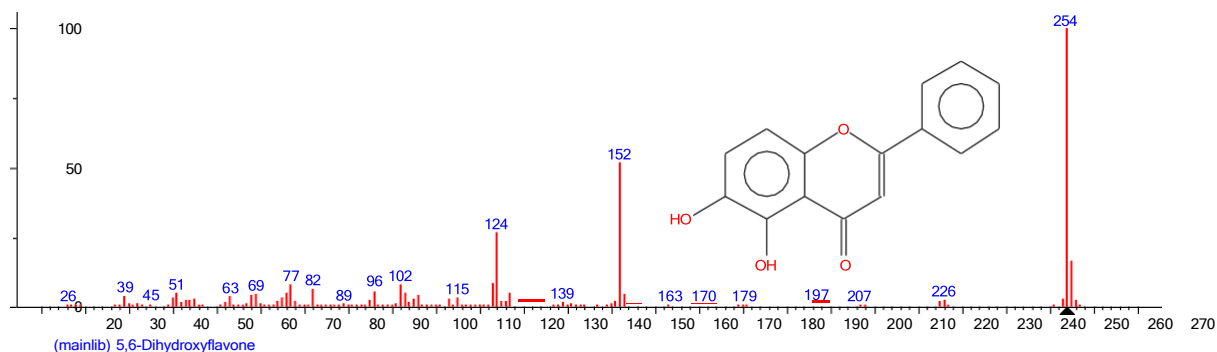


Рисунок 4 – Масс – спектр 9,10-антрацендиона (52,49 мин)

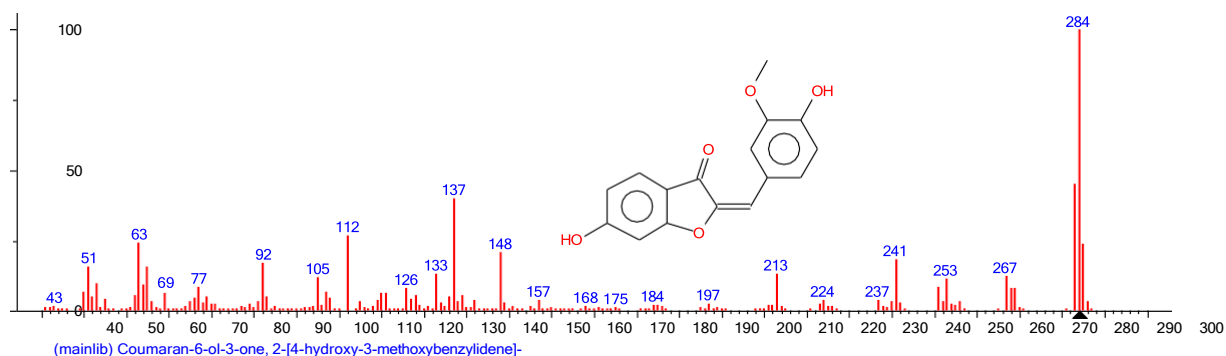


Рисунок 5 – Масс-спектр 9,10-антрацендиона (1,8-dihydroxy-3-methoxy 6-methyl) (60,43 мин)

По результатам анализа комплекс, представленным на рисунке 1, получены различные вторичные метаболиты в корнях. Преимущественная доля компонентов составляют эфиры жирных кислот, органические кислоты и углеводы, антрахиноны и флаваноиды.

На 52,49 и 60,43 мин были идентифицированы 9,10-антрацендион, класса хинонов (9,10-Anthracenedione, 1,8-dihydroxy-3-methoxy-6-methyl-) с формулой $C_{16}H_{12}O_5$, молекулярной массой 284 m/z. Полученные результаты соответствуют и подтверждают данные других исследователей [160, 161], представленные ранее, а учитывая полученный противоязвенный эффект антрахинонов и флаваноидов, логично предположить их роль в проявлении гастропротекторной активности *R. tianschanicus* L. (Рисунок 3).

На 27,59 мин был идентифицирован Пламбагин (Plumbagin, $C_{11}H_8O_3$, молекулярная масса 188) или 5-гидрокси-2-метил-1,4-нафтохинон

представляет собой органическое соединение, желтый краситель, формально полученный из нафтохинона. Ранее не были опубликованы обнаружения Пламбагина в корневых комплексах *R. tianschanicus* L. Обладает антиоксидантной и противоязвенной активности, что подтверждают некоторые литературные данные [162, 163] (Рисунок 4).

На 51,36 мин были идентифицированы форбол (C₂₀H₂₈O₆, молекулярная масса 364) - натуральное органическое соединение растительного происхождения. Это член семейства дитерпенов тиглиана. Имеет слабительное действие [164] (Рисунок 4).

3.2. Изучение острой и хронической токсичности комплекса на основе *R. tianschanicus* L.

Согласно рекомендациям и Руководству по экспериментальным исследованиям, для обеспечения безопасности лекарственных средств в первую очередь необходима изучить их токсичность.

Разрешение на проведение работ с лабораторными животными было выдано ЛЭК (локальная этическая комиссия) РГП на ПХВ Институт генетики и физиологии (выписка из протокола представлена в приложении В).

Для оценки острой и хронической токсичности биологически активного комплекса, полученного из корней *R. tianschanicus* L. были определены - процент выживаемости экспериментальных животных (крыс) в зависимости от дозировки, масса лабораторных крыс, изучение ВНД в тесте "ОП", определение биохимических показателей в сыворотке крови лабораторных животных, патоморфологическое исследование с внешним осмотром и определением коэффициента масс органов. Для проведения хронической токсичности, нужно было определить острую токсичность [165].

Определение острой токсичности проводили на здоровых беспородных белых крысах (5 групп по 6 особей). Комплекс вводили однократно внутрижелудочно в дозах 10 мг/кг; 25мг/кг; 50мг/кг; 100мг/кг; 200мг/кг натошак. Результаты представлены в таблице 6 [166].

Таблица 6 - Процент выживаемости экспериментальных животных (крыс) в опыте по определению острой токсичности антрахинон- флавоноидного комплекса, полученного из корней *R. tianschanicus* L. в зависимости от дозировки

Доза комплекса, группа	10 мг/кг	25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг	200 мг/кг
Выжило, %	100%	100%	95%	95%	100%
Выбыло из опыта*	0	0	5%*	5%*	0
Примечание: * – выбыло из опыта из-за повреждений на теле					

Смертность является важным критерием токсикологической оценки [167]. По результатам таблицы 6, во всех группах отмечена 100%-ная выживаемость, только 10% животных выбыли из опыта, однако смертность явно не была связана с введением комплекса, причина летального исхода этих двух (10%) крыс была связана с неправильным использованием зонда.

Таким образом, комплекс *R. tianschanicus* L. вводимый в разных дозировках (10мг/кг, 25мг/кг, 50мг/кг, 100мг/кг) не вызывает гибели экспериментальных животных и не является токсичным. В таблице 7 приведены результаты исследования влияния комплекса *R. tianschanicus* L. на динамику изменения показателей массы тела животных в опыте хронической токсичности.

Таблица 7 – Показатели значений массы тела животных и массовых коэффициентов хронической токсичности БАК полученного из корней *R. tianschanicus* L.

Период, день	Контроль, гр.	Хроническая токсичность, гр.
1 день	198,68±10,16	196,30±4,45
7 день	214,94±3,28	208,70±7,54
14 день	224,10±4,86	217,24±9,26
21 день	245,44±8,12	229,10±11,63
28 день	256,68±7,60	236,28±13,46
Примечание: - статистически достоверные изменения в группе «хроническая токсичность» по отношению к контрольной группе, при $p \leq 0,05$		

Сравнительный анализ показателей массы животных контрольной группы и группы с пероральным введением комплекса *R. tianschanicus* L. ХТ (хроническая токсичность) представленный в таблице 7, показывает отсутствие статистически достоверного различия ($p < 0,01$) между показателями массы тела контрольной группы и группы с длительным введением комплекса *R. tianschanicus* L. экстракта в хроническом эксперименте. Масса животных в контрольной группе составлял 198,68±10,16 г., а в группе хр.токсичности – 196,30±4,45г. На 14-ый день эксперимента у животных контрольной группы масса находилась в пределах 224,10±4,86 г., в группе ХТ – 217,24±9,26 гр. В заключительный день (28 день) эксперимента масса тела увеличилась до 256,68±7,60 г. в контрольной группе и 236,28±13,46 гр. в группе, вводимой экстракта в опыте хронической токсичности, что свидетельствует о полном отсутствии отеков у экспериментальных животных.

Таким образом, результаты свидетельствуют о том, что БАК на основе корней из *R. tianschanicus* L. на массы тела в опыте хронической токсичности

имеют положительную динамику по контролю веса, которые систематически получали данный комплекс.

Изучение локомоторной (двигательной) активности экспериментальных животных в тестах «открытое поле».

В определении поведенческих реакций экспериментальных животных (ориентировочно-исследовательская активность и эмоционально-двигательное поведение) нами были применены такие показатели, как количество (центровых посещений и посещенных квадратов, стойки (пристеночные и свободные), мочеиспускание, дефекация, груминг, и заглядывание в норку, количество посещений (светлого рукава и темного рукава), длительность пребывания (в светлом/темном рукаве), и длительность центровых посещений (сек.), согласно доклиническим исследованиям, описаны в таблице 8.

Таблица 8 – Изучение локомоторной активности экспериментальных животных в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» хронической токсичности биологически активного комплекса *R. tianschanicus* L.

Показатель	Контрольная группа	Хроническая токсичность
Ориентировочно-исследовательская активность		
Количество центровых посещений	0,6±0,5 (1,1,0,1,0)	1±0 (1,1,1,1,1)
Мочеиспускание	1,4±0,9 (1,2,2,2,0)	1,2±0,4 (1,1,1,1,2)
Дефекация	0,8±0,4 (1,1,1,1,0)	1,2±0,4 (2,1,1,1,1)
Груминг	0,6±0,5 (0,1,1,1,0)	1,4±0,5 (1,2,1,1,2)
Количество посещенных квадратов	23±13	36±11,9
Пристеночные стойки	10,8±3,7	20,2±9,4
Свободные стойки	7,8±4,3	12,4±4,2
Заглядывание в норку	5,8±2,2	3,2±1,5
Эмоционально-двигательное поведение		
Количество посещений светлого рукава	7,6±2,3	8,6±3,1
Количество посещений темного рукава	6,6±2,1	3,6±1,8
Длительность пребывания в светлом рукаве, сек.	69,2±16,8	83,4±16,4
Длительность пребывания в темном рукаве, сек.	151,1±39,9	118,4±34,1
Длительность центровых посещений, сек.	31±11,6	43,6±13,4
Примечание: *- статистически достоверные изменения в группе «хроническая токсичность» по отношению к контрольной группе, при $p \leq 0,05$		

Таким образом, анализируя данные результатов по наблюдению и учету периодической активности экспериментальных групп животных (таблица 8), можно было отметить в экспериментальных группах (КГ/ГХТ) количество центровых посещений – $0,6 \pm 0,5/1 \pm 0$; мочеиспускание – $1,4 \pm 0,9/1,2 \pm 0,4$; дефекация – $0,8 \pm 0,4/1,2 \pm 0,4$; груминг – $0,6 \pm 0,5/1,4 \pm 0,5$; количество посещенных квадратов – $23 \pm 13/36 \pm 11,9$; пристеночные стойки – $10,8 \pm 3,7/20,2 \pm 9,4$; свободные стойки – $7,8 \pm 4,3/12,4 \pm 4,2$; заглядывание в норку – $5,8 \pm 2,2/3,2 \pm 1,5$ в соответствии данным таблицы 8. При наблюдении эмоционально-двигательного поведения отмечалось увеличение количества посещений светлого рукава $7,6 \pm 2,3$ в КГ до $8,6 \pm 3,1$ в группе хр.токсичности, длительности пребывания в светлом рукаве $69,2 \pm 16,8/83,4 \pm 16,4$ сек. и длительности центровых посещений $31 \pm 11,6/43,6 \pm 13,4$ сек. Надо отметить то, что регистрировалось понижением количества посещений темного рукава в экспериментальных группах (контрольная/хроническая токсичность) $6,6 \pm 2,1/3,6 \pm 1,8$ и длительности пребывания в темном рукаве $151,1 \pm 39,9/118,4 \pm 34,1$ сек. Таким образом, в изучении локомоторной активности экспериментальных животных в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» в опыте хронической токсичности комплекса *R. tianschanicus* L. можно отметить положительную динамику общего состояния животных, получавших комплекс *R. tianschanicus* L. ориентировочно-исследовательской активности и эмоционально-двигательного поведения [168].

Так же измерение массы внутренних органов и подсчет массовых коэффициентов являются обязательной манипуляцией при исследовании токсических эффектов препаратов в доклинических исследованиях [169]. В таблице 9 данные по результатам массы и массовые коэффициенты органов животных в опыте хронической токсичности комплекса *R. tianschanicus* L.

Таблица 9 – Показатели общей массы органов и массовых коэффициентов органов животных хронической токсичности биологически активного комплекса *R. tianschanicus* L.

Показатель	Контроль, г.		Хроническая токсичность, г.	
	Масса органа, г	Массовый коэффициент, %	Масса органа, г	Массовый коэффициент, %
Сердце	$3,40 \pm 0,6$	$1,28 \pm 0,05$	$3,14 \pm 0,22$	$1,30 \pm 0,08$
Почки	$2,50 \pm 0,0$	$0,94 \pm 0,10$	$2,06 \pm 0,15$	$0,86 \pm 0,04$
Печень	$9,13 \pm 0,8$	$3,46 \pm 0,27$	$8,96 \pm 0,36$	$3,73 \pm 0,16$
Селезенка	$4,94 \pm 0,19$	$1,87 \pm 0,05$	$4,08 \pm 0,33^*$	$1,69 \pm 0,10^{**}$
Примечание: *- статистически достоверные изменения масс органов животных в группе «хроническая токсичность» по отношению к контрольной группе, при $p \leq 0,05$; **- статистически достоверные изменения массовых коэффициентов животных в группе «хроническая токсичность» по отношению к контрольной группе, при $p \leq 0,05$				

По представленным в таблице 9 данным по массам и массовым коэффициентам органов в исследовании хронической токсичности комплекса *R. tianschanicus* L. были отмечены статистически достоверные изменения в массе селезенки (г.), результатами которых были в группе хр. токсичности $4,08 \pm 0,33$ г., а в группе контроля $4,94 \pm 0,19$ г. Также статистически достоверные изменения присутствовали в массовом коэффициенте селезенки $-1,87 \pm 0,05\%$ в контрольной группе и $1,69 \pm 0,10$ г. в группе комплекса хр. токсичности. Для других показателей масс органов (г.) и их МК (массовые коэффициенты, %) статистически достоверных изменений не было выявлено. И так, масса сердца в контрольной группе при взвешивании составила $3,40 \pm 0,16$ г., в группе хр. токсичности $-3,14 \pm 0,22$ г., при этом МК сердца $-1,28 \pm 0,05\%$ и $1,30 \pm 0,08\%$ в соответствии данным таблицы 9. По данным массам почек, можно отметить, что у контрольных групп масса данного органа составила $2,50 \pm 0,30$ г., а в группе хр. токсичности $-2,06 \pm 0,15$ г., МК почек $-0,94 \pm 0,10\%$ и $0,86 \pm 0,04\%$ соответственно. Масса печени была в пределах $9,16 \pm 0,83$ г. в контрольной группе, в группе хр. токсичности $-8,96 \pm 0,36$ г.; МК печени $-3,46 \pm 0,27\%$ и $3,73 \pm 0,16\%$. На основании проведенного морфологического анализа органов по данным структуры, поверхности и в разрезе, наличия кровоизлияний, признаков отека, структурных образований и изменений со стороны внутренних органов лабораторных животных, принимавших биологически активного комплекса *R. tianschanicus* L. не было выявлено.

Как известно, измерение массы внутренних органов и подсчет их массовых коэффициентов относительно массы тела являются обязательной манипуляцией при исследовании токсических эффектов препаратов в доклинических исследованиях [170]. Массовый коэффициент органов – процентное отношение массы органа к массе тела, используемый в токсикологии для оценки состояния внутренних органов. Изменения МКО отражают объективное состояние внутренних органов и их поражение [171].

Таким образом, анализируя массы и массовые коэффициенты, пероральное введение БАК на основе экстракта корней *R. tianschanicus* L. лабораторным крысам не вызвало статистически достоверное снижение массы тела животных опытной группы в сравнении с показателями контрольной группы.

Признаков интоксикации у животных опытной группы не наблюдали. На 28-е сутки эксперимента крысы были умерщвлены и подвергнуты аутопсии, в результате которой не было каких-либо заметных патологических изменений внутренних органов. Проведенное исследование позволило установить, что комплекс на основе корней *R. tianschanicus* L. не оказал токсичного воздействия на жизненно важные органы, массы и массовые коэффициенты лабораторных крыс.

Сравнительный анализ биохимических показателей крови контрольной и опытных групп в опыте острой токсичности комплекса *R. tianschanicus* L., представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Биохимические показатели крови экспериментальных групп животных в опыте острой токсичности в дозировке комплекса *R. tianschanicus* L. 100мг/кг

Биохимический показатель	Единица измерения	Группа контрольная	Острая токсичность группа
Показатели уровня билирубина и его фракций, трансаминаз			
Билирубин общий	мкмоль/л	2,50±1,10	3,96±1,15
Билирубин прямой	мкмоль/л	1,22±0,67	1,14±0,30
Билирубин непрямой	мкмоль/л	2,12±1,73	2,82±1,04
Аланинаминотрансфераза	МЕ/л	59,60±15,04	58,66±25,76
Аспартатаминотрансфераза	МЕ/л	143,56±50,12	110,34±71,30
Щелочная фосфатаза	МЕ/л	176,94±79,38	170,14±84,88
Показатели липидного обмена			
Холестерин общий	ммоль/л	1,94±0,64	1,86±0,56
Холестерин ЛПВП	ммоль/л	1,02±0,14	0,76±0,16
Холестерин ЛПНП	ммоль/л	1,23±0,55	1,17±0,32
Коэффициент атерогенности		0,86±0,44	1,30±0,42
Показатели белкового и углеводного обмена			
Альбумин	г/л	28,00±7,18	31,86±6,80
Белок	г/л	63,00±11,27	65,40±7,83
Триглицериды	ммоль/л	0,73±0,43	0,93±0,35
Креатинин	мкмоль/л	58,20±12,24	62,90±15,06
Мочевина	ммоль/л	5,38±1,82	5,22±1,56
Мочевая кислота	ммоль/л	268,16±164,64	300,04±58,17
Глюкоза	ммоль/л	7,26±3,79	4,98±0,70
Примечание: * - статистически достоверные изменения в группе «острой токсичность» по отношению к контрольной группе, при $p \leq 0,05$			

По данным биохимических показателей, представленных в таблице 10, статистически достоверных изменений в уровнях веществ между контрольной и экспериментальной ($p \leq 0,05$) не было выявлено. Результаты показателей крови в определении острой токсичности опытных групп, позволили установить следующие значения по пигментному обмену: уровень общего билирубина находился в значениях $2,50 \pm 1,10$ мкмоль/л в группе контрольной, $3,96 \pm 1,15$ мкмоль/л ОТГ (группа острая токсичность), прямой билирубин – $1,22 \pm 0,67$ мкмоль/л в контрольной группе, $1,14 \pm 0,30$ мкмоль/л в группе острая токсичность, а уровень непрямого билирубина составил $2,12 \pm 1,73$ мкмоль/л (контрольная группа), $2,82 \pm 1,04$ мкмоль/л (ОТГ). Содержание АЛТ варьировалось в группе контрольной – $59,60 \pm 15,04$ МЕ/л, в острой токсичности группы – $58,66 \pm 25,76$ МЕ/л. Концентрация АСТ составил в группе острая токсичность $110,34 \pm 71,30$ МЕ/л а в ГК $143,56 \pm 50,12$ МЕ/л. Отмечается тенденция понижении концентрации ЩФ $170,14 \pm 84,88$ МЕ/л (ОТГ) по отношению группы контрольной $176,94 \pm 79,38$ МЕ/л.

По данным таблицы 10 липидного обмена у опытных животных контрольной и группы по определению острой токсичности на фоне перорального введения биологически активного комплекса *R. tianschanicus* не отмечается присутствие статистически достоверных различий ($p \leq 0,05$).

Зафиксированы концентрации общего холестерина – $1,94 \pm 0,64$ ммоль/л в группе контроля, $1,86 \pm 0,56$ ммоль/л в группе острая токсичность; содержание холестерина высокой плотности – $1,02 \pm 0,14$ ммоль/л группа контрольная (ГК), $0,76 \pm 0,16$ ммоль/л в группе острая токсичность; уровень холестерина низкой плотности – $1,23 \pm 0,55$ ммоль/л (ГК), $1,17 \pm 0,32$ ммоль/л в группе острая токсичность. Коэффициент атерогенности составил $0,86 \pm 0,44$ и $1,30 \pm 0,42$ соответственно при коэффициенте 0-5.

В показателях белкового и углеводного обменов также не было выявлено статистически достоверных изменений ($p \leq 0,001$). Показатели альбумина находились в пределах $28,00 \pm 7,18$ г/л в ГК и $31,86 \pm 6,80$ г/л в группа острая токсичность (ОТГ). Результаты данных показателей общего белка варьировались в пределах $63,00 \pm 11,27$ г/л в ГК и $65,40 \pm 7,83$ г/л в ОТГ. Показатели триглицеридов в группе контрольной составили $0,73 \pm 0,43$ ммоль/л, в ОТГ – $0,93 \pm 0,35$ ммоль/л.

В показателях креатинина в крови опытных животных наблюдалось повышение его концентрации и составили в ГК – $58,20 \pm 12,24$ мкмоль/л, ОТГ – $62,90 \pm 15,06$ мкмоль/л. Содержание мочевины в ГК находилось $5,38 \pm 1,82$ ммоль/л, тогда как в ОТГ – $5,22 \pm 1,56$ ммоль/л. Отмечается также повышение концентраций мочевой кислоты и составила $268,16 \pm 164,64$ ммоль/л в ГК и в $300,04 \pm 58,17$ ммоль/л в ОТГ. Глюкоза крови животных ГК была в концентрации $7,26 \pm 3,79$ ммоль/л, в ОТГ – $4,98 \pm 0,70$ ммоль/л. Следует отметить, что все показатели белкового обмена лабораторных животных опытной группы находились в пределах физиологической нормы.

Таким образом, по данным биохимических исследований было выявлено отсутствие токсичных свойств антрахинон-флавоноидного комплекса *R. tianschanicus* L.

Таблица 11 – Биохимические показатели печеночной и почечной функций у экспериментальных групп животных в опыте хронической токсичности комплекса при дозировках: 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50мг/кг 100 мг/кг

Группа животных	Общий билирубин, ммоль/л	АлТ, МЕ/л	АсТ, МЕ/л	ЩФ, МЕ/л	Мочевина, ммоль/л	Мочевая кислота, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
Интактные	0,9±0,4	22,0±3,6	10,4±2,0	276,94±79,38	3,7±0,5	330,8±35,9	55,0±3,6
Контрольные (вода для инъекций)	0,8±0,2	23,0±3,5	10,8±4,9	268,0±64,9	3,7±0,3	335,8±36,8	53,8±4,5
Комплекс 10 мг/кг	0,9±0,3	24,0±2,3	11,8±5,9	237,4±37,1*	4,1±0,5	316,9±34,8	51,2±4,3
Комплекс 25 мг/кг	1,3±0,6*	25,3±2,5*	10,8±0,73	239,2±17,3*	4,0±0,8	311,5±25,5	52,3±4,7
Комплекс 50 мг/кг	1,2±0,4*	26,0±3,3*	31,2±4,0**	241,7±10,4*	4,4±1,0*	314,5±27,5	55,3±5,7*
Комплекс 100 мг/кг	1,6±0,2**	26,5±3,5*	33,4±4,1*	245,6±10,8**	4,5±1,2*	320,5±31,5	56,3±5,9*
Примечание: * - статистически достоверные изменения по отношению к интактной группе, при p≤0,05; ** - статистически достоверные изменения по отношению к интактной группе, при p≤0,05;							

На таблице 11 были предоставлены результаты биохимических показатели печеночной и почечной функций у экспериментальных групп животных в опыте хронической токсичности комплекса *R. tianschanicus* L. при дозировках: 10мг/кг, 25мг/кг, 50мг/кг 100мг/кг.

В показателях общего билирубина не было выявлено статистически достоверных изменений ($p \leq 0,05$). Показатели билирубина составили $0,9 \pm 0,4$ ммоль/л в интактной группе, $0,8 \pm 0,2$ ммоль/л в контрольной группе. Результаты данных показателей общего билирубина варьировались в пределах $0,9 \pm 0,3$ ммоль/л и $1,6 \pm 0,2$ ммоль/л в опытных группах токсичности. Содержание АЛТ составил в группах интактные $22,0 \pm 3,6$ МЕ/л, контрольные $23,0 \pm 3,5$ МЕ/л, в группе ХТ (10 мг/кг) $24,0 \pm 2,3$ МЕ/л, ХТ (25 мг/кг) $25,3 \pm 2,5$ МЕ/л, ХТ (50 мг/кг) $26,0 \pm 3,3$ МЕ/л и в группе ХТ (100мг/кг) $26,5 \pm 3,5$. Концентрация АСТ варьировалось в группе интактной – $10,4 \pm 2,0$ МЕ/л, ХТ (100мг/кг) – $33,4 \pm 4,1$ МЕ/л [126].

Известно, что ряд токсичных соединений накапливается в печени, где происходит детоксикация [172]. Согласно литературным данным, повреждение печени оценивают путем определения сывороточных трансаминаз (АЛТ и АСТ), а также путем измерения общего количества белков [173]. Активность АЛТ и АСТ у животных ХТ 10мг/кг и ХТ 25мг/кг остается в пределах колебаний, характерных для контрольных животных (2-я группа), а у крыс группы ХТ 50мг/кг и ХТ 100мг/кг оказывается незначительно выше, чем в контрольной группе, однако эти изменения невелики по абсолютной величине.

В данном исследовании не наблюдалось каких-либо существенных изменений в сывороточных уровнях этих двух маркеров функции печени после хронического введения комплекса *R. tianschanicus* L. в разных дозировках. Отмечается тенденция понижению концентрации ЩФ $176,94 \pm 79,38$ в интактной группе, $268,0 \pm 64,9$ МЕ/л в ГК, в опытных группах: ХТ 10мг/кг - $237,4 \pm 37,1$ МЕ/л; ХТ 25мг/кг - $239,2 \pm 17,3$; ХТ 50мг/кг - $241,7 \pm 10,4$; ХТ 100мг/кг - $245,6 \pm 10,8$. По данным авторов, почки получают около 25% сердечного кровотока, и любое вещество, попадающее в большой круг кровообращения, попадает в этот орган. Поэтому они считаются частыми объектами токсичности [174, 175]. Функцию почек оценивали по уровням мочевины и креатинина в сыворотке крови. Содержание мочевины находилось в интактной группе $3,7 \pm 0,5$ ммоль/л, в ГК $3,7 \pm 0,3$ тогда как в опытных группах варьировались: ХТ 10мг/кг - $4,1 \pm 0,5$ ммоль/л; ХТ 25мг/кг - $4,0 \pm 0,8$ ммоль/л; ХТ 50мг/кг - $4,4 \pm 1,0$ ммоль/л; ХТ 100мг/кг - $4,5 \pm 1,2$ ммоль/л. Отмечается понижение концентраций мочевой кислоты и составила $330,8 \pm 35,9$ интактной группе ммоль/л и в ГК и $268,0 \pm 64,9$ ммоль/л, а в опытных группах: ХТ 10мг/кг - $316,9 \pm 34,8$ ммоль/л; ХТ 25мг/кг - $311,5 \pm 25,5$ ммоль/л; ХТ 50мг/кг - $314,5 \pm 27,5$ ммоль/л; ХТ 100мг/кг - $320,5 \pm 31,5$ ммоль/л. Это показывает усиление распада белка, что свидетельствует об отсутствии отрицательного влияния комплекса на органы мочевыделительной системы. Уровень креатинина в сыворотке отмечалось, интактной группе составила $55,0 \pm 3,6$ мкмоль/л, в ГК $53,8 \pm 4,5$ мкмоль/л и в опытных группах наблюдалось незначительное снижение, так в группе ХТ 10мг/кг - $51,2 \pm 4,3$ мкмоль/л, ХТ 25мг/кг - $51,2 \pm 4,3$ ммоль/л; ХТ 50мг/кг - $55,3 \pm 5,7$ ммоль/л; ХТ 100мг/кг - $56,3 \pm 5,9$ ммоль/л. Таким образом, данные биохимических исследований указывают на отсутствие токсического действия комплекса разных дозировках [126].

Таблица 12 – Показатели липидного обмена у экспериментальных групп животных у экспериментальных групп животных в опыте хронической токсичности комплекса *R. tianschanicus* при дозировках: 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50мг/кг 100 мг/кг.

Группа животных	Триглицериды, ммоль/л	Общий холестерин, ммоль/л	Холестерин ЛПВП, ммоль/л	Холестерин ЛПНП, ммоль/л	Коэффициент атерогенности
Интактные	$0,8 \pm 0,02$	$1,6 \pm 0,03$	$1,0 \pm 0,02$	$1,0 \pm 0,02$	$0,7 \pm 0,02$
Вода для инъекций	$0,6 \pm 0,05$	$1,8 \pm 0,04$	$0,9 \pm 0,01$	$0,9 \pm 0,04$	$0,6 \pm 0,3$
Хр.токсичность 10 мг/кг	$0,9 \pm 0,03$	$1,9 \pm 0,05$	$1,1 \pm 0,2$	$1,0 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,04$
Хр.токсичность 25 мг/кг	$0,8 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,06$	$1,2 \pm 0,03$	$1,3 \pm 0,05$	$0,9 \pm 0,05$
Хр.токсичность 50 мг/кг	$1,0 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,07$	$1,3 \pm 0,04$	$1,4 \pm 0,05$	$0,7 \pm 0,06$
Хр.токсичность 100 мг/кг	$1,2 \pm 0,07$	$2,0 \pm 0,09$	$1,4 \pm 0,05$	$1,5 \pm 0,6$	$0,8 \pm 0,07$

Примечание: * – статистически достоверные изменения по отношению к интактной группе при $p \leq 0,05$;

По результатам таблицы 12 показателей липидного обмена у экспериментальных групп животных хронической токсичности не наблюдалось статистически достоверных различий ($p \leq 0,05$) по триглицеридам, общему холестерину, холестерин ЛПВП, ЛПНП и коэффициенту атерогенности. Результаты находились в пределах физиологической нормы.

При визуальном осмотре нами было отмечено отсутствие видимых изменений в макроструктуре органов.

Данная работа демонстрирует отсутствие выраженных токсических свойств у комплекса *Rumex tianschanicus* L в условиях *in vivo* на основании биохимических показателей.

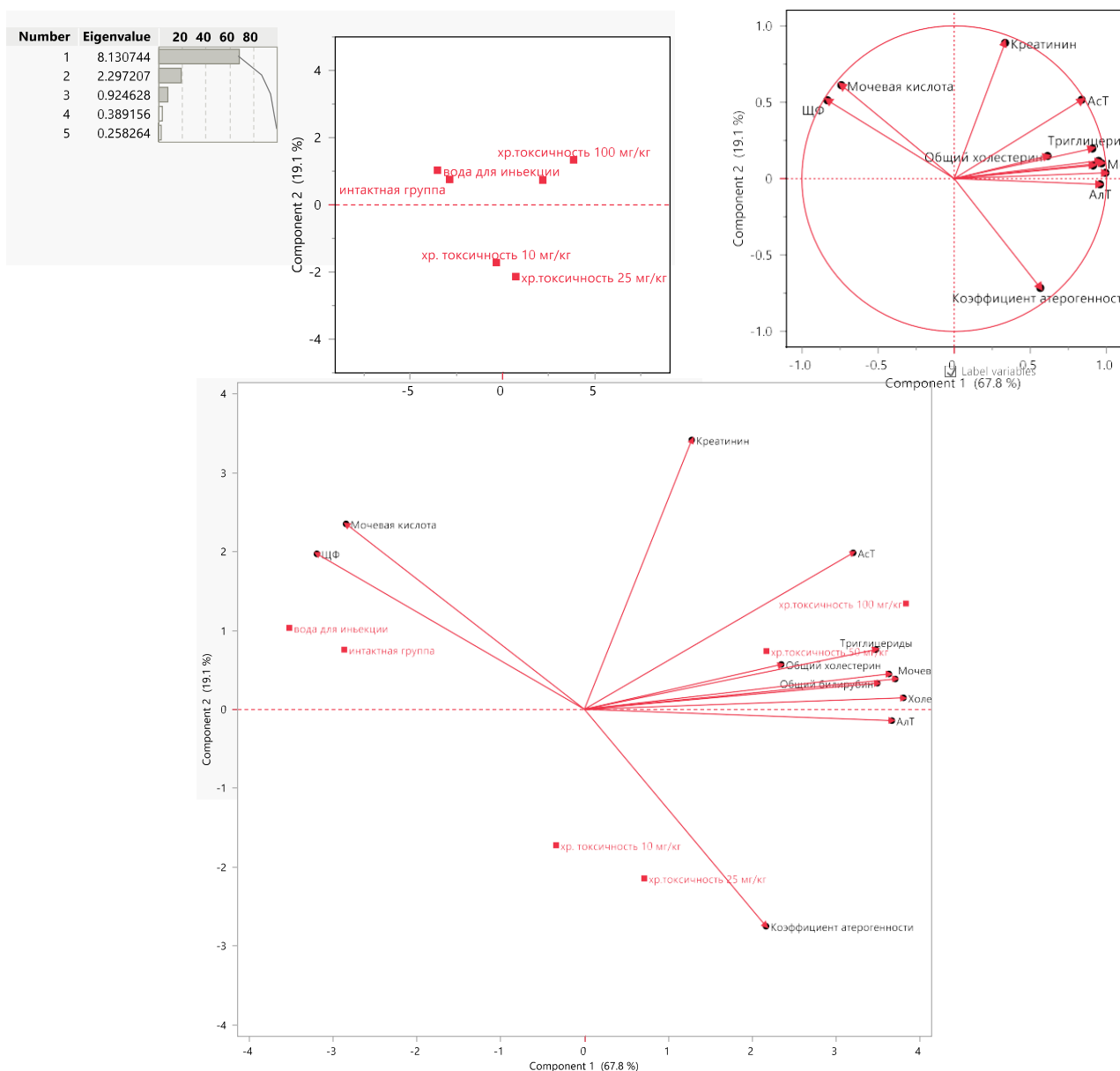


Рисунок 7 – Метод главных компонент (РСА) биохимических

показателей печеночной и почечной функций, липидного обмена у экспериментальных групп животных в опыте хронической токсичности комплекса *R. tianschanicus* L. при дозировках: 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг при loading plot (a) и bi-plot вариации

Результаты PCA для данных по биохимическими показателями показаны на рисунке 7. Первые два оставшихся компонента, PC1 и PC2, составляли 86,9% от общей вариации. В частности, PC1 представлял 67,8% от общей вариации, а PC2 — 19,1%. На рисунке 11 график PCA показывает, что биохимические показатели у экспериментальных групп животных, классифицированные по контрольной и групп по токсичности, разделены на две группы, которую можно отличить от других. Примечательно, что интактные и «вода для инъекции» группы располагались в левой части би-площадки, при этом группы по токсичности образовывали отдельные кластеры в правой части. Для интактной «вода для инъекции» группы были характерны ЩФ и мочева кислота. При манипуляции с введением токсичности биохимические показатели у экспериментальных групп животных кардинально меняются. При низких дозировках токсичности, группы «хроническая токсичность 10 мг/кг» и «хроническая токсичность 25 мг/кг» сильно повлиял коэффициент атерогенности. Общий холестерин, общий билирубин, АлТ, мочевины, ЛПВП и ЛПНП были характерны для групп «хроническая токсичность 50 мг/кг». Группа «хроническая токсичность 100 мг/кг» оказалась изменчива к таким показателям, как триглицериды, креатинин, АсТ.

Корреляционный анализ

На Рисунке 8 (цифровые значения приведены в Приложении Б) приведены коэффициенты корреляции Пирсона между биохимическими параметрами лабораторных животных (крысы). Эти корреляции продемонстрировали достоверно высокие положительные корреляции общего билирубина с холестерином ЛПВП ($r=0,9257$) и ЛПНП ($r=0,9517$). Также, АлТ имеет достоверную высокую положительную корреляцию с мочевиной ($r=0,9230$), ЛПВП ($r=0,9311$) и ЛПНП ($r=0,9231$). Мочевина имеет положительную корреляцию с триглицеридами ($r=0,9163$) и холестерином ЛПВП ($r=0,9471$). Холестерин ЛПВП имеет высокую корреляцию с ЛПВН ($r=0,9686$) и триглицеридом ($r=0,9165$). Также, щелочная фосфатаза (ЩФ) имеет положительную корреляцию с мочевой кислотой ($r=0,9526$), а с остальными биохимическими показателями имеют отрицательную корреляцию, особенно высокую отрицательную корреляцию показал с АлТ ($r=-0,8227$) и мочевиной ($r=-0,8023$). Мочевая кислота имела значительные отрицательные корреляции с коэффициентом атерогенности ($r=-0,8015$).

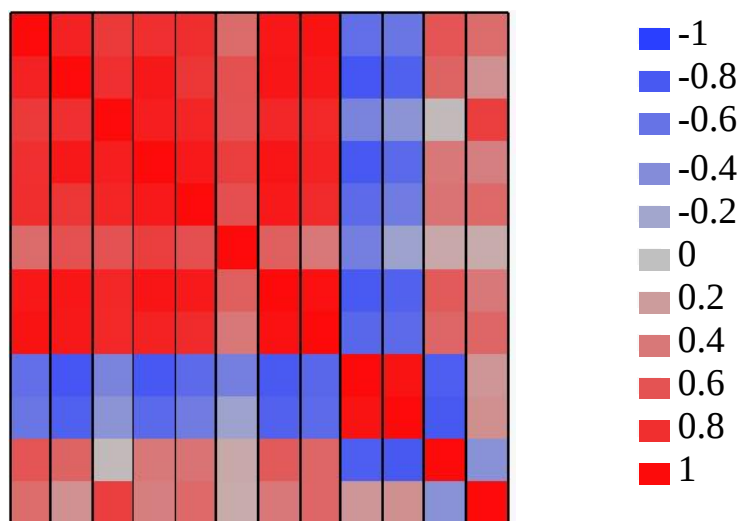


Рисунок 8 – Корреляционная карта печеночной и почечной функций, липидного обмена у экспериментальных групп животных в опыте хронической токсичности экстракта *R. tianschanicus* L. при дозировках: 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50мг/кг и 100 мг/кг при loading plot (a) и bi-plot вариации

3.3 Влияние биологически активного комплекса *R. tianschanicus* L. на количественные показатели клеток периферической крови и костного мозга в условиях *in vivo*

Согласно имеющимся литературным данным, БАВ, присутствующие в представителях рода *Rumex* могут иметь ряд биологических эффектов, связанных со стимуляцией или наоборот, угнетением кроветворной функции [176].

Для выяснения потенциального влияния биологически активного комплекса *R. tianschanicus* L. на количественные показатели клеток периферической крови было проведено изучение гематологических показателей экспериментальных групп животных при различной дозировке, данные представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Гематологические показатели экспериментальных групп животных введением комплекса *R. tianschanicus* при дозировках: 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50мг/кг 100 мг/кг

Наименование показателя, единица измерения	МС	Интактная группа	Вода для инъекций	10 мг/кг	25 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг
Общее количество Лейкоцитов 10 ⁹ /л	WBC	6,3 ± 0,02	6,5 ± 0,05	7,2 ± 0,9*	6,7 ± 0,7	7,3±0,6*	7,4 ±0,4*
	RBC	6,3 ± 0,08	6,1±0,07	7,1±0,1*	6,5±0,1	6,9±0,6	7,1±0,5*

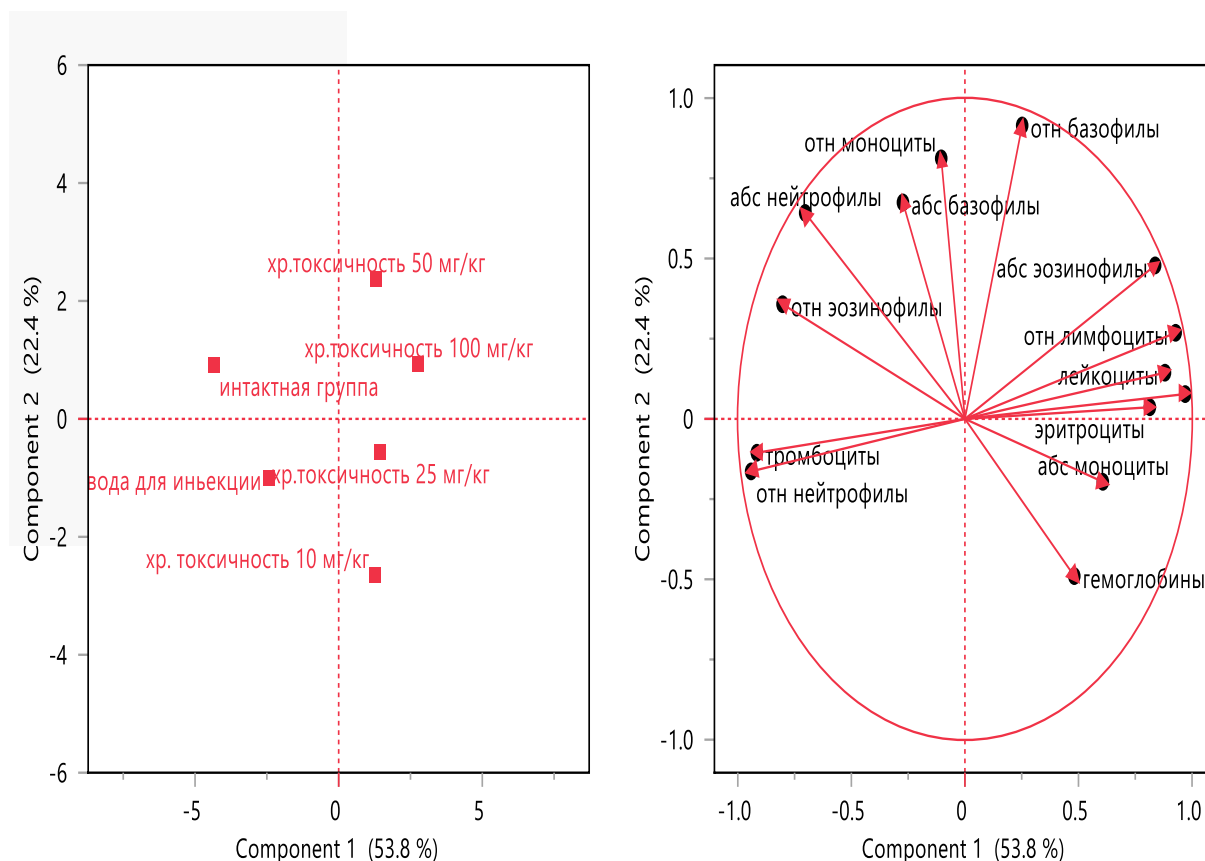
Общее количество Эритроцитов $10^{12}/л$							
Уровень гемоглобина, г/л	HGB	$138,0 \pm 4,7$	$136,5 \pm 5,2$	$142,0 \pm 5,8^*$	$145,2 \pm 4,3^*$	$136,5 \pm 4,5$	$140,0 \pm 4,8$
Общее количество тромбоцитов, $10^9/л$	PLT	$410,5 \pm 23,0$	$397,6 \pm 17,5$	$390,9 \pm 22,7$	$372,0 \pm 15,8$	$381,8 \pm 18,3$	$376,0 \pm 19,6$
Абсолютное содержание нейтрофилов, $10^9/л$	Neut	$5,7 \pm 0,04$	$5,2 \pm 0,09$	$4,7 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,05$	$5,5 \pm 0,8$	$4,8 \pm 0,06$
Абсолютное содержание лимфоцитов, $10^9/л$	Lymph	$2,5 \pm 0,01$	$2,9 \pm 0,08$	$3,8 \pm 0,05^*$	$4,33 \pm 0,39^*$	$4,11 \pm 0,2^*$	$4,2 \pm 0,7^{**}$
Абсолютное содержание моноцитов, $10^9/л$	Моно	$0,5 \pm 0,01$	$0,6 \pm 0,01$	$0,8 \pm 0,03^*$	$0,5 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,4$	$0,9 \pm 0,5^*$
Абсолютное содержание эозинофилов, $10^9/л$	Eos	$0,2 \pm 0,01$	$0,3 \pm 0,01$	$0,3 \pm 0,1$	$0,4 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,02^*$	$0,5 \pm 0,01^*$
Абсолютное содержание базофилов, $10^9/л$	Baso	$0,03 \pm 0,001$	$0,02 \pm 0,005$	$0,01 \pm 0,001$	$0,02 \pm 0,003$	$0,02 \pm 0,001$	$0,03 \pm 0,002$
Относительное содержание нейтрофилов, %	Neut	$49,0 \pm 3,6$	$46,2 \pm 7,4$	$45,5 \pm 7,4$	$43,8 \pm 8,6$	$43,75 \pm 5,6$	$42,7 \pm 7,3$
Относительное содержание лимфоцитов %	Lymph	$43,4 \pm 2,3$	$44,5 \pm 3,9$	$46,2 \pm 6,5^*$	$49,2 \pm 3,2^*$	$48,45 \pm 8,6^*$	$50,1 \pm 6,4^*$
Относительное содержание моноцитов, %	Моно	$6,8 \pm 0,9$	$5,5 \pm 0,8$	$5,7 \pm 0,6$	$6,2 \pm 0,4$	$6,6 \pm 0,9$	$6,3 \pm 0,9$
Относительное содержание эозинофилов %	Eos	$2,6 \pm 0,09$	$2,55 \pm 0,01$	$1,6 \pm 0,01$	$1,7 \pm 0,09$	$2,0 \pm 0,01$	$2,1 \pm 0,015$
Относительное содержание базофилов, %	Baso	$0,2 \pm 0,03$	$0,17 \pm 0,09$	$0,15 \pm 0,01$	$0,19 \pm 0,05$	$0,3 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,09$
Примечание: * – статистически достоверные изменения по отношению к интактной группе, при $p \leq 0,05$. ** – статистически достоверные изменения по отношению к интактной группе, при $p \leq 0,01$							

Результаты гематологических показателей экспериментальных групп животных с введением комплекса *R. tianschanicus* L. при разных (10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг 100 мг/кг) дозировках представлены в таблице 13. Общее количество эритроцитов, уровень гемоглобина, абсолютное и относительное содержание нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов и базофилов статистически достоверно ($p \leq 0,05$) не изменилось (Рисунок 8) [174].

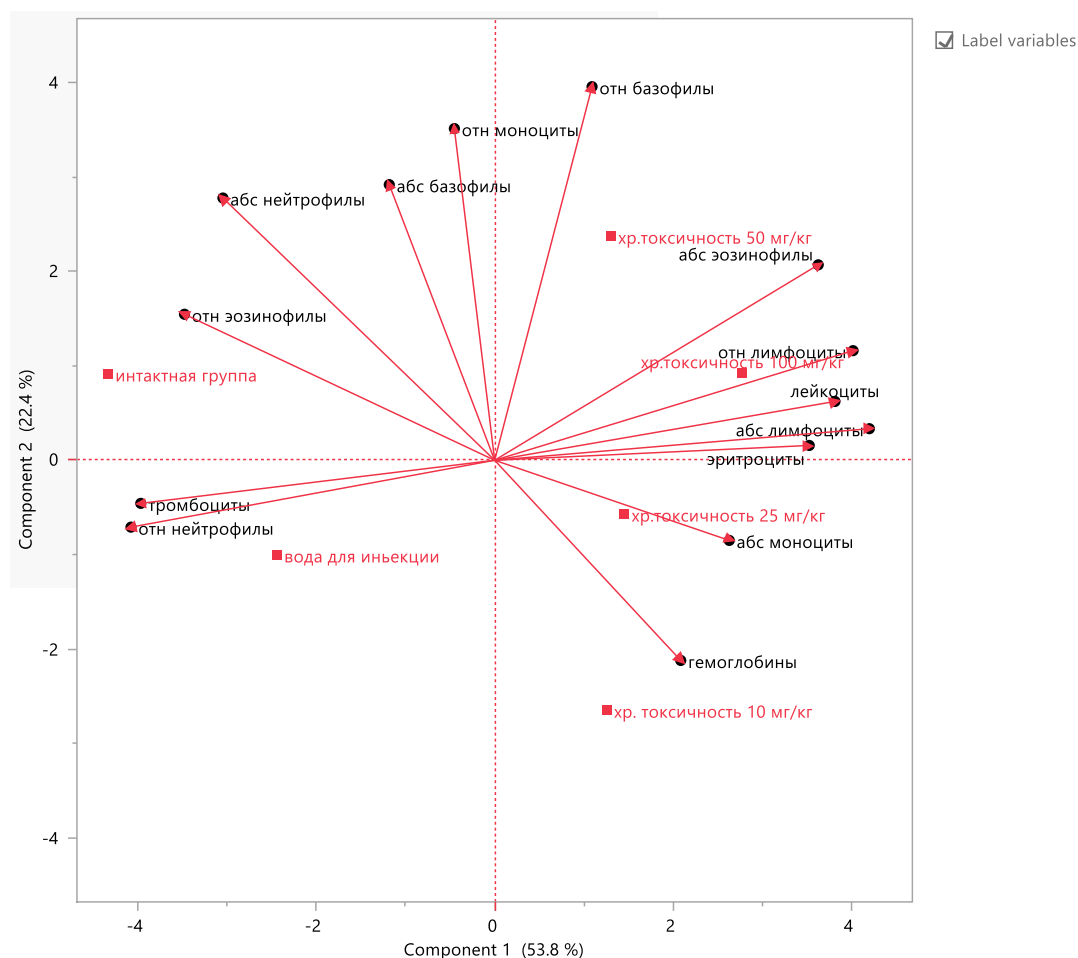
В то время как показатели общего количество лейкоцитов в 50 и 100 мг/кг по отношению к интактной группе изменились статистически достоверно ($p \leq$

0,05). Общее количество тромбоцитов в опытных группах во всех дозах достоверно ($p \leq 0,05$) изменились по отношению к интактной группе и группы 25, 100 мг/кг достоверно изменились по отношению к интактной группе.

Согласно таблице 12, наблюдались статистически достоверные различия ($p \leq 0,05$) абсолютного содержания лимфоцитов во всех опытных группах к интактной и различия групп токсичности 25, 50, 100 мг/кг по отношению к группе, принимавшей воду. Значения абсолютного содержания лимфоцитов находились в пределах физиологической нормы.



a)



б)

Рисунок 9 – Метод главных компонент (PCA) гематологических показателей экспериментальных групп животных введением комплекса *R. tianschanicus* L. при дозировках: 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг при loading plot и bi-plot вариации

Результаты PCA-анализа показали, что первые два компонента, PC1 и PC2, составляли 76,2% общей вариации данных, из которых 53,8% приходится на PC1, а 22,4% — на PC2. График PCA, представленный на рисунке 9, демонстрирует, что гематологические показатели крыс, классифицированные по контрольной группе по токсичности, образуют уникальный кластер, который можно отличить от других. Это свидетельствует о значительном влиянии определённых гематологических параметров при применении комплекса.

Особенность распределения данных заключается в том, что группы "интакт" и "вода для инъекции" размещаются в левой части би-площадки, в то время как группы с введением комплекса формируют отдельный кластер. Гематологические показатели для различных групп изменялись в зависимости от воздействия препаратов. Для интактной группы было характерно увеличение уровня тромбоцитов, относительных эозинофилов, абсолютных нейтрофилов, а также частичное увеличение абсолютных базофилов. В группе "вода для инъекции" изменения касались в первую очередь тромбоцитов и относительных нейтрофилов. Группа, получавшая дозу 10 мг/кг комплекса, показала наиболее

выраженные изменения в уровне гемоглобина. Для дозы 25 мг/кг наибольшие изменения касались абсолютных моноцитов и эритроцитов. Группа с дозой 50 мг/кг характеризовалась изменениями в относительных базофилах и абсолютных эозинофилах. Для группы с дозой 100 мг/кг наиболее изменчивыми показателями оказались абсолютные лимфоциты, общий уровень лейкоцитов и относительные лимфоциты.

Таким образом, РСА-анализ выявил специфические изменения гематологических показателей в зависимости от дозы комплекса, что подчеркивает его влияние на организм.

Кластерный анализ

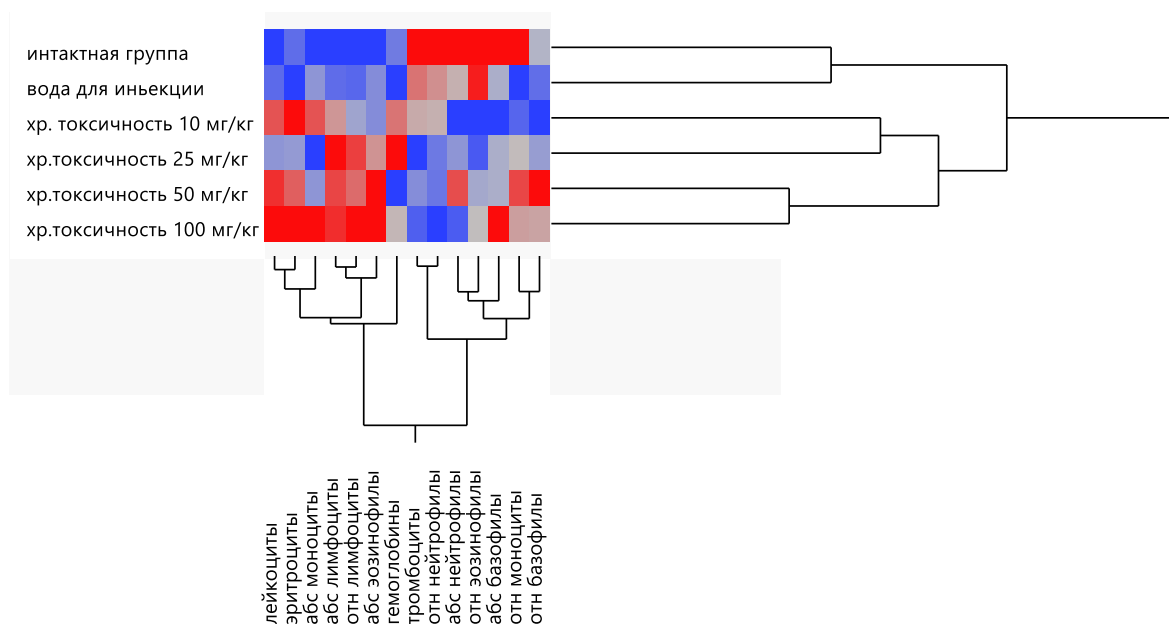


Рисунок 10 – Дендрограмма кластерного анализа экспериментальных групп животных опыте разных дозировок комплекса *R. tianschanicus* L.

Также был проведен иерархический кластерный анализ (НСА) с использованием связи Уорда для определения взаимосвязи между различными группами на основе их гематологических показателей. Дендрограммы разделили виды на три группы (Рисунок 11). Первая группа – интактная и «вода для инъекции» группы характеризовалась более низким содержанием уровня лейкоцитов, эритроцитов, абсолютного количества моноцитов, абсолютного количества лимфоцитов, относительного уровня лимфоцитов, абсолютного содержания эозинофилов и концентрации гемоглобина. Как показывают результаты гематологических исследований, при интактной группе показатели тромбоцитов, относительной нейтрофилов, абсолютной нейтрофилов, относительной эозинофилов и абсолютной базофилов оказались намного выше чем у остальных групп. Вторая группа, включающая групп «10мг/кг» и «25 мг/кг», характеризовалась более низкими концентрациями абсолютной нейтрофилов, относительной эозинофилов, абсолютной базофилов и относительной базофилов. При этом у группы «25 мг/кг» гематологические

показатели абсолютной лимфоцитов, гемоглобинов оказались выше остальных групп исследований. К третьей группе относились группы «50 мг/кг» и «100 мг/кг». Для этой группы оказались характерны высокие показатели лейкоцитов, эритроцитов, абсолютной эозинофилов и относительной базофилов. Также, отмечаются низкие показатели гемоглобинов, тромбоцитов, относительной и абсолютной нейтрофилов.

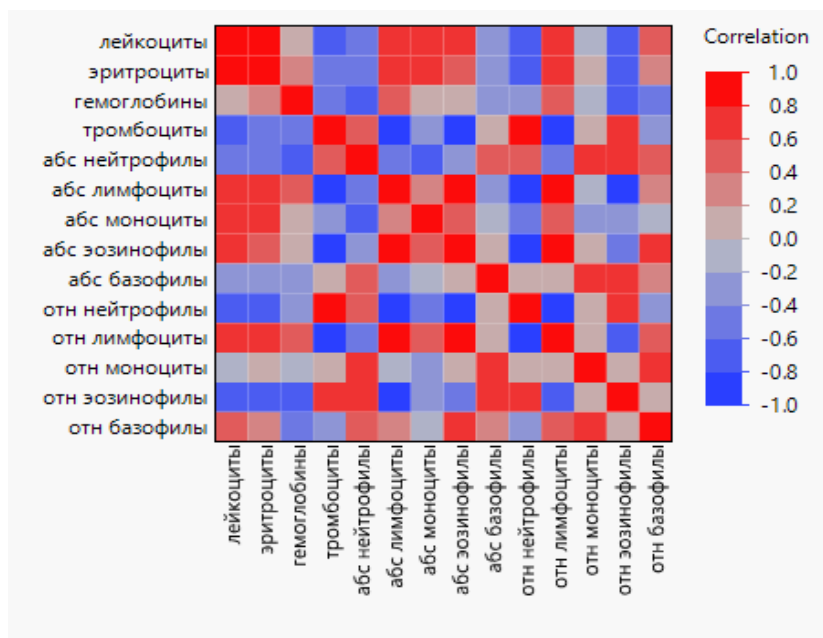


Рисунок 11– Корреляционная карта гематологических показателей экспериментальных групп животных с введением комплекса в дозировках: 10 мг/кг, 25 мг/кг, 50мг/кг 100 мг/кг

На рисунке 11 (цифровые значения приведены в Приложении Б) приведены коэффициенты корреляции Пирсона между гематологическими параметрами крыс. Эти корреляции продемонстрировали достоверно высокие положительные корреляции между лейкоцитами и эритроцитами ($r=0,9350$), тромбоцитами и относительным нейтрофилами ($r=0,9579$), а также абсолютным лимфоцитом и относительным лимфоцитом ($r=0,9528$), абсолютным эозинофилом и относительным лимфоцитом ($r=0,9181$), относительным нейтрофилом и тромбоцитом ($r=0,9579$). Относительные лимфоциты имели значительные отрицательные корреляции с тромбоцитом ($r=-0,9674$), относительным нейтрофилом ($r=-0,9574$). Тромбоциты показали существенные отрицательные корреляции с абсолютными лимфоцитами ($r=-0,9648$) и относительным лимфоцитом ($r = -0,9674$).

Данные по количественному анализу ранних гемопоэтических предшественников приведены в таблице 14.

Таблица 14 – Количественные изменения миелограммы крыс в контроле и группе с введением комплекса *R. tianschanicus* L. в дозе 100мг/кг

Типы клеток	Контроль	Введение комплекса
Миелобласты	2,43±0,06	4,77±1,75
Нейтрофильные промиелоциты	1,85±0,43	2,53±1,16
Нейтрофильные миелоциты	8,31±1,10	6,57±0,91
Нейтрофильные метамиелоциты	5,12±0,23	3,59±0,85
Нейтрофильная группа клеток	5,93±1,56	4,09±1,06
Зрелые нейтрофилы	4,60±0,30	1,11±0,12*
Эозинофильные миелоциты	1,62±0,37	2,95±0,75
Эозинофильные метамиелоциты	1,80±0,07	1,12±0,21*
Эозинофильная группа клеток и зрелые эозинофилы	0,35±0,08	0,26±0,05
Базофильные миелоциты	0	0
Базофильные метамиелоциты	0	0
Базофильная группа клеток и зрелые базофилы	0,17±0,05	0,18±0,04
Эритробласт	1,50±0,38	3,35±1,00
Пронормобласт	0	1,16±0,93
Базафильные нормабласты	3,61±2,15	5,88±1,02
Полихроматофилы	11,43±3,01	12,88±1,72
Нормоциты	19,10±1,47	26,63±6,68
Ретикулоциты	11,04±2,52	10,40±2,13
Монобласты	0,79±0,16	0
Лимфобласты	0	0
Моноциты	0,17±0,07	0,37±0,03*
Лимфобласты	5,38±1,37	4,58±1,18
Промиелоциты	3,73±0,42	2,61±0,61
Лимфоциты	3,24±0,53	5,13±0,48
Мегакариоциты	0	0
Промегакариобласты	0,41±0,11	0
Мегакариоциты	0,20±0,05	0,18±0,02
Тучные клетки	0,67±0,02	0,01±0,001*
Примечание: *– статистически значимые изменения в группе с введением комплекса по отношению к контрольной группе, при $p<0,05$		

Рассматривая таблицу 14, нами были идентифицированы количественные изменения миелограммы крыс в контроле и группе с введением комплекса *R. tianschanicus* L.

Были определены типы клеток и подсчитан их количественный состав входящих в миелограмму клеток.

Анализируя данные таблицы 15, не было выявлено статистически достоверных изменений $p \leq 0,05$ во многих количественных показателях типов клеток миелограммы кроме количества зрелых нейтрофилов, эозофильных метамиелоцитов, моноцитов и тучных клеток.

На основании данных по соотношению клеток костного мозга и показатели зрелых форменных элементов крови выявлено комплекса не оказывает угнетающего действия на гемопоэз. Статистически достоверное увеличение показателей крови $p \leq 0,05$ в количестве зрелых нейтрофилов составляют в контрольной группе $4,60 \pm 0,30$ и снижаются в группе с введением экстракта, эозофильных метамиелоцитов до $1,11 \pm 0,12$. Количество насчитывалось в контроле $1,80 \pm 0,07$ и были установлены статистически достоверные изменения $p \leq 0,05$ в отношении к группе с введением экстракта *R. tianschanicus* L. - $1,12 \pm 0,21$. В контрольной группе количество моноцитов составляло $0,17 \pm 0,07$ и увеличилось в 2 раза в группе с введением комплекса *R. tianschanicus* L. - $0,37 \pm 0,03$ по отношению к контролю, что также было выявлено статистически при $p \leq 0,05$. И самым статистически достоверным изменением ($p \leq 0,05$) более чем в 30 раз наблюдалось в количестве тучных клеток контрольной группы $0,67 \pm 0,02$ и уменьшением до $0,01 \pm 0,001$ в группе с введением комплекса *R. tianschanicus* L. [175].

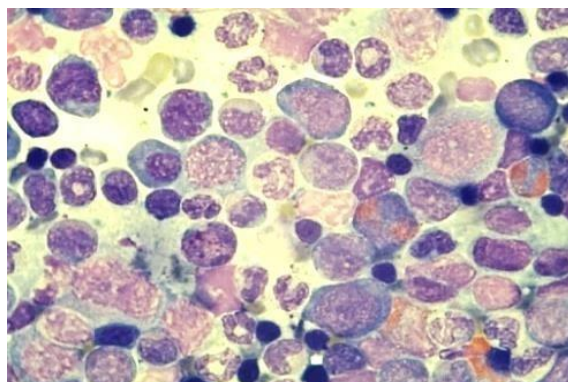
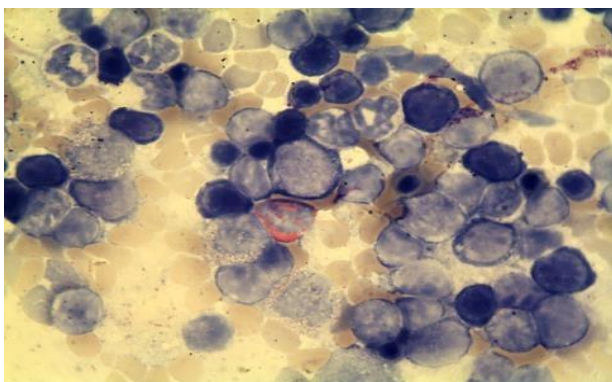


Рисунок 12 – Микрофотография цитологического исследования красного костного мозга контрольной группы (май Окраска по Грюнвальду-Гимзе (MGG), ув. $\times 100$, иммерсионное масло).

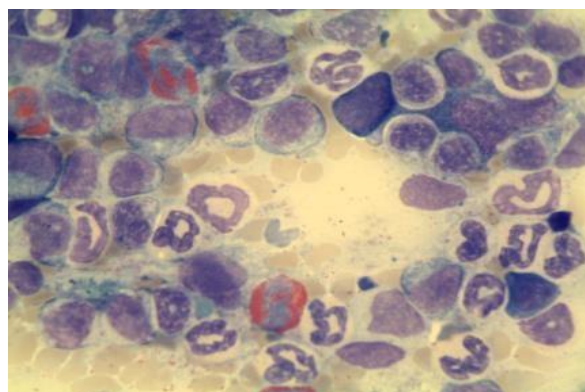
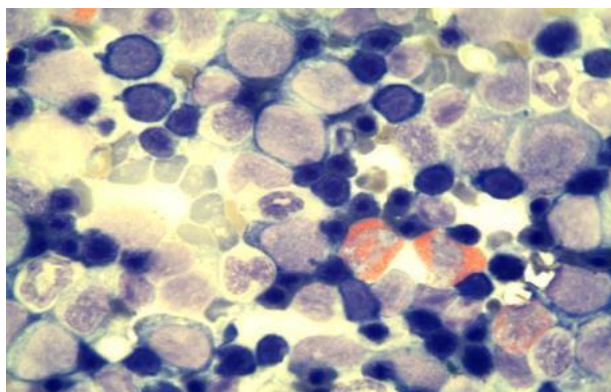


Рисунок 13 – Цитологическая микрофотография красного костного мозга с пероральным введением экстракта *Rumex tianschanicus* L. (увеличение x100, иммерсионное масло).

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что повышение форменных элементов крови не было связано со стимулирующим действием комплекса на гемопоэз, а носило относительный характер, и потенциально было связано с изменением гематокрита. Кроме того, статистически достоверное ($p < 0,05$) увлечение уровня зрелых лимфоцитов может свидетельствовать о перераспределении популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов и их миграцией из лимфоидных органов в кровяное русло [175].

3.4 Исследование противоязвенной активности комплекса *R. tianschanicus* L. на модели индометациновой язвы

Результаты противоязвенной активности комплекса *R. tianschanicus* L. на модели индометацинового повреждения слизистой оболочки желудка у крыс представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Противоязвенная активность внутрижелудочного введения комплекса *R. tianschanicus* L. на модели индометацинового повреждения слизистой оболочки желудка у крыс.

Группы животных	Распространенность язвы у крыс, %	Количество точечных язв	Количество крупных язв	ИП	ПА
Контроль (Язвенная болезнь желудка без лечения)	100	$4,8 \pm 0,9$	$4,6 \pm 0,7$	12,3	-
Язва желудка + Профилактическое введение	60	$2,1 \pm 0,4 *$	$1,2 \pm 0,5 *$	6,2	2,3
Язва желудка + Однократная введение	35	$2,7 \pm 0,6 *$	$2,8 \pm 0,8 *$	5,4	1,9
Язва желудка + Длительное применение комплекса	30	$1,3 \pm 0,5 *$	$1,8 \pm 0,3 *$	6,1	2,1
Примечание: * - статистически значимые изменения в контрольной группе по отношению к другой группе, при $p < 0,05$; ИП - индекс Паулса; ПА - противоязвенная активность.					

Результаты исследования, представленные в таблице 15, показывают, группы язва желудка + профилактическое введение комплекса (ПА=2,3) и язва

желудка + длительное применение экстракта (ПА=2,1) обладают выраженной противоязвенной активностью в дозе 100 мг/кг. Таким образом, при профилактическом введении и в длительном применении комплекса *R. tianschanicus* значительной степени способствует сокращению количества язвенных дефектов на фоне действия индометацина.

Патоморфологическое исследование желудка

На рисунках 14–20 представлены результаты патоморфологического исследования желудка крыс контрольной и опытной групп с индометацин-индуцированными язвами, которым перорально вводили комплекс из корней *R. tianschanicus* L.

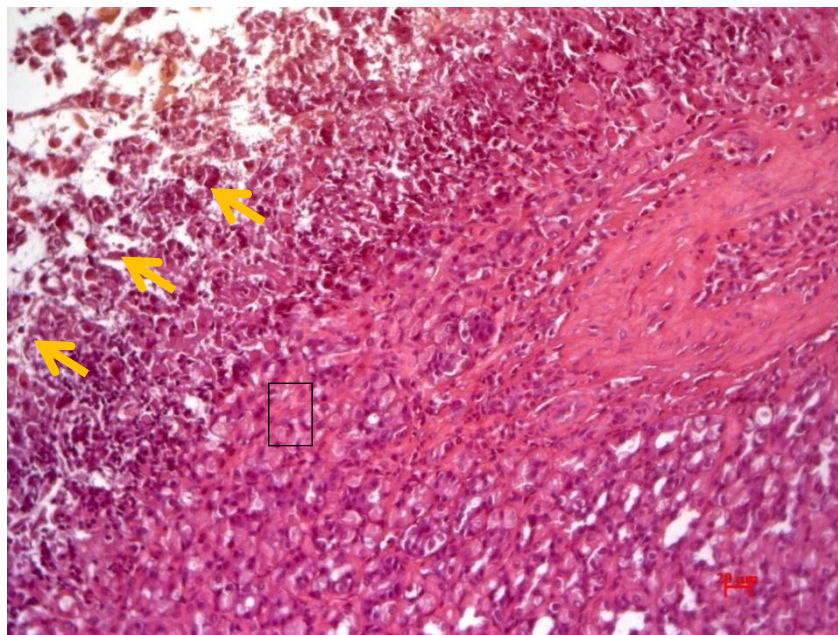


Рисунок 14 – Контрольная группа с индуцированной индометациновой язвой. Десквамация эпителия (желтые стрелки), инфильтрация подслизистого слоя лейкоцитами (L). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

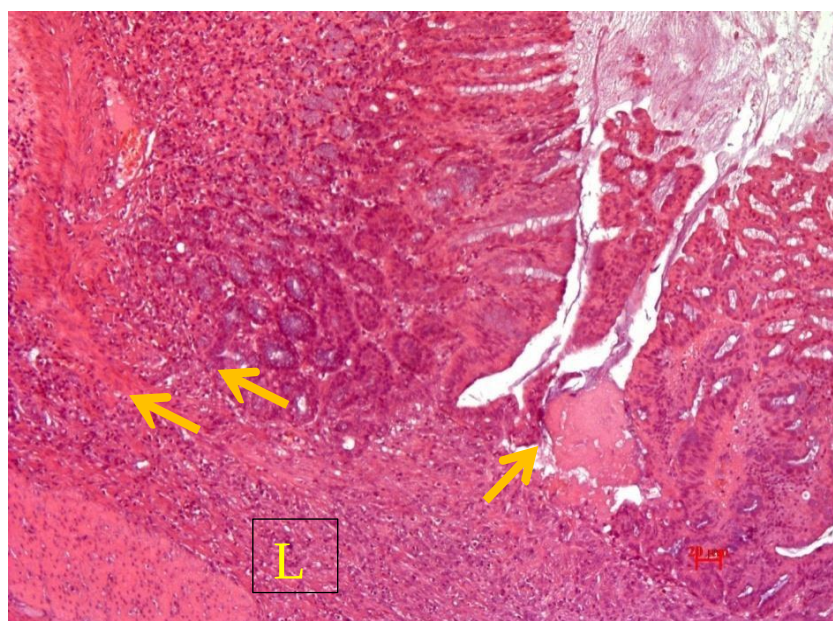


Рисунок 15 – Контрольная группа с индуцированной индометациновой язвой. Эпителизация неполная, с перестройкой желез по пилорическому типу (желтые стрелки) и выраженная лейкоцитарная инфильтрация (L) дна язвы. Гематоксилин-эозин, ув. 200.

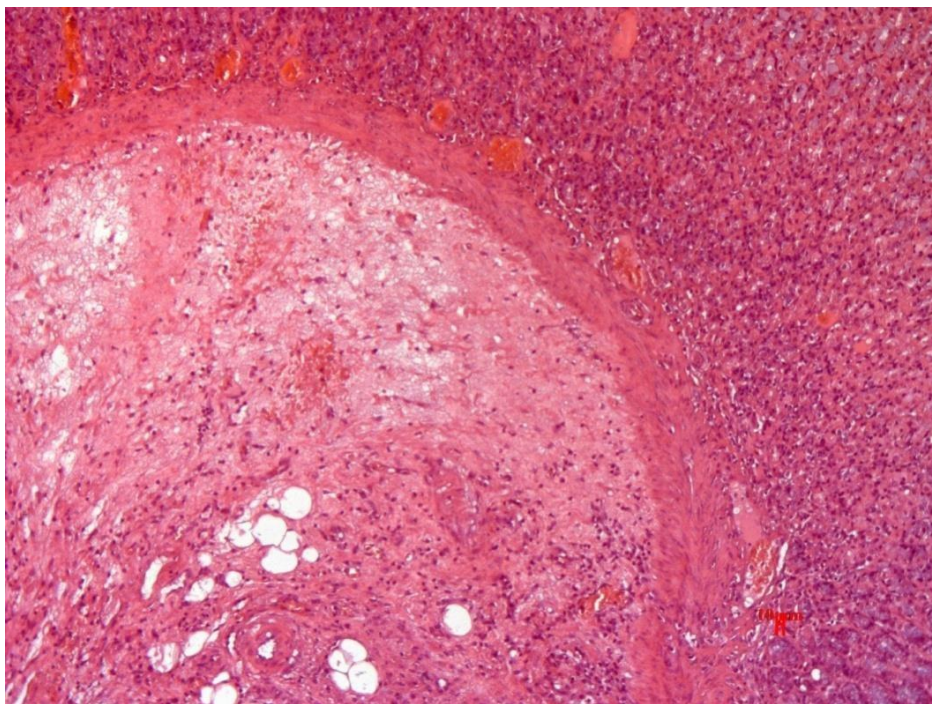


Рисунок 16 – Контрольная группа с индуцированной индометациновой язвой. Эпителизация неполная, с перестройкой желез по пилорическому типу (желтые стрелки) и выраженная лейкоцитарная инфильтрация (L) дна язвы. Гематоксилин-эозин, ув. 200.

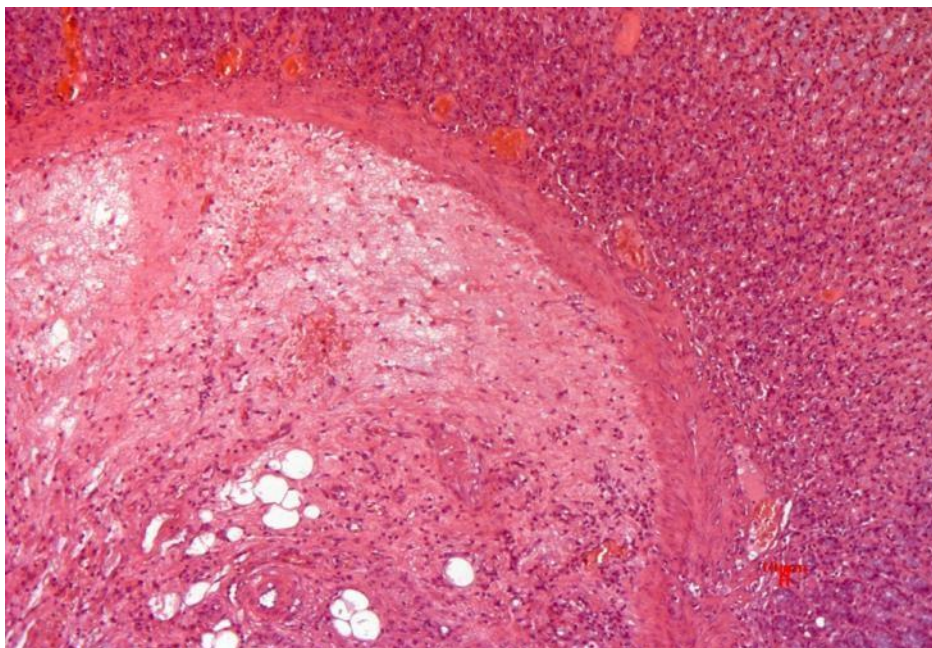


Рисунок 17 – Контрольная группа с индуцированной индометациновой язвой. Отек (E) и лейкоцитарная инфильтрация подслизистого слоя (L). Гематоксилин-эозин, ув. 200.

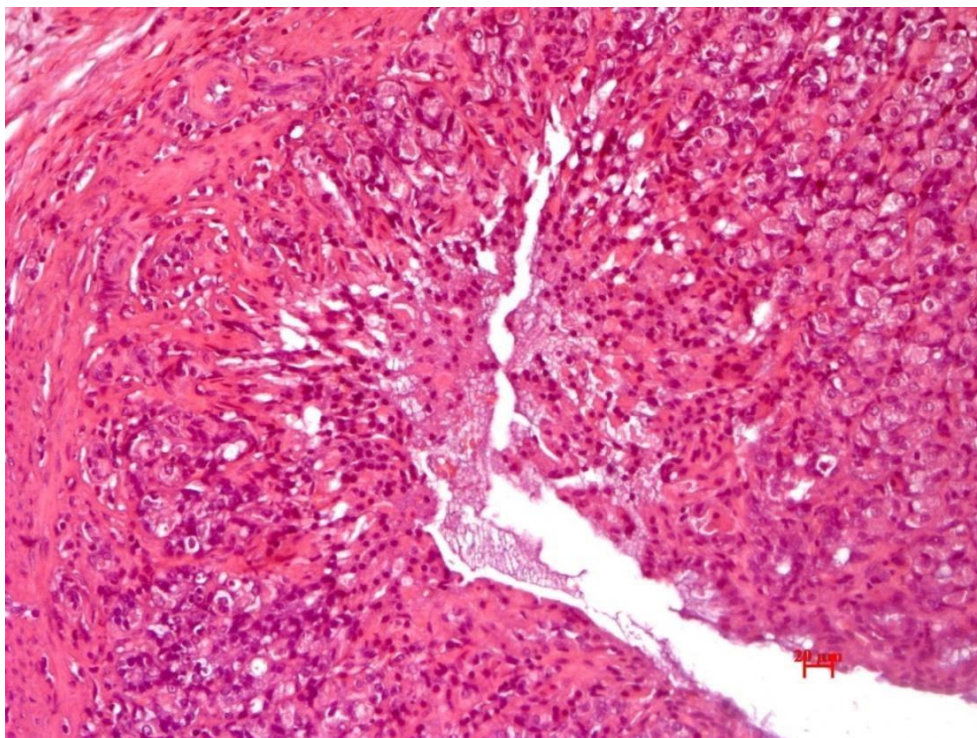


Рисунок 18 – Опытная группа с индуцированной индометациновой язвой + комплекс *R. tianschanicus* L. Десквамация и некроз эпителия (желтые стрелки), незначительный отек (Е) и незначительная лейкоцитарная инфильтрация (L) подслизистого слоя. Гематоксилин-эозин, ув. 200.

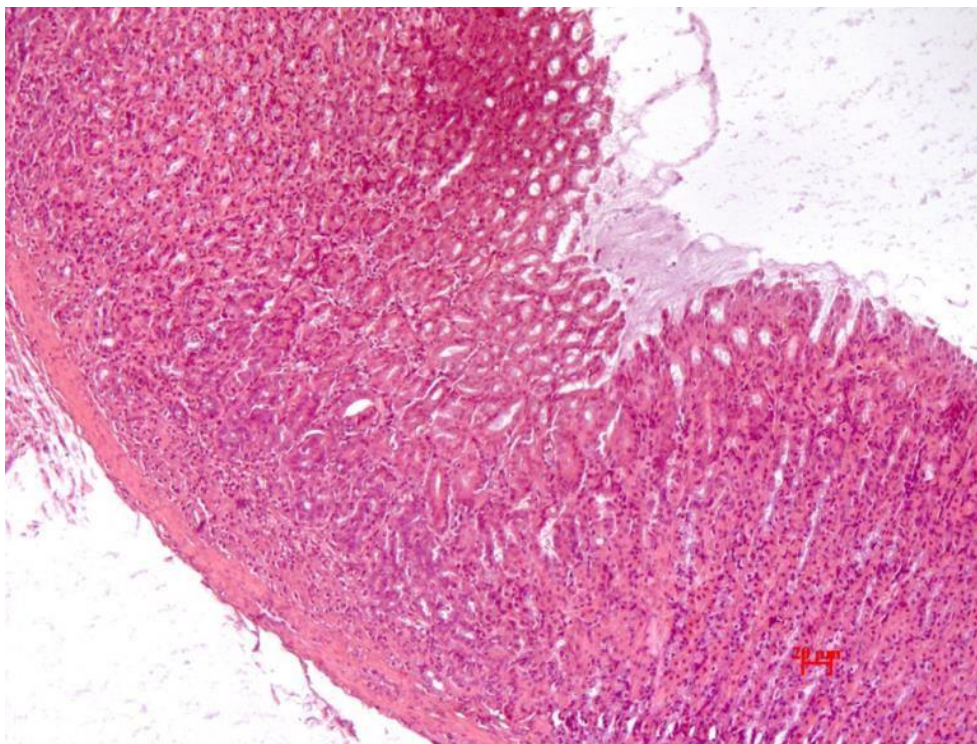


Рисунок 19 – Опытная группа с индуцированной индометациновой язвой + комплекс *R. tianschanicus* L. Полная эпителизация язвы (желтые стрелки), незначительная лейкоцитарная инфильтрация (L) подслизистого слоя.

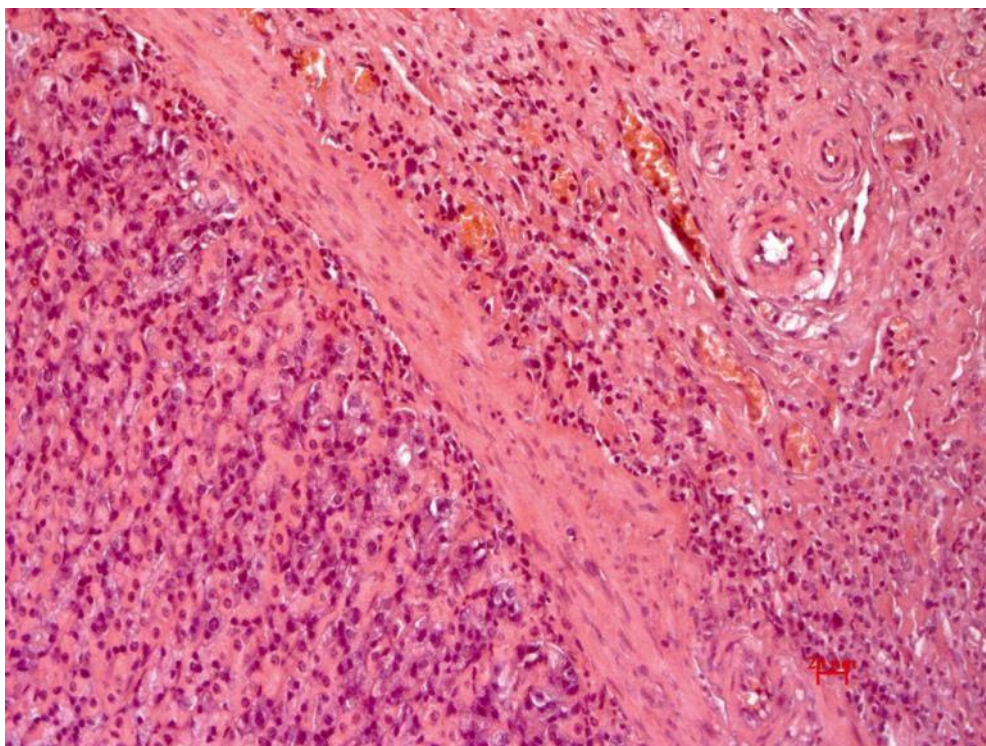


Рисунок 20 – Опытная группа с индуцированной индометациновой язвой + комплекс *R. tianschanicus* L. (длительное применение). Незначительный отек (E) и лейкоцитарная инфильтрация (L) подслизистого слоя. Гематоксилин-эозин, ув. 200.

Рисунок 14 — было показано десквамация эпителия, инфильтрация подслизистого слоя лейкоцитами; Рисунок 16 — неполная эпителизация с перестройкой желез по пилорическому типу и выраженной лейкоцитарной инфильтрацией дна язвы; (Рисунок 16) отек и лейкоцитарная инфильтрация подслизистого слоя; (Рисунок 18) шелушение и некроз эпителия, небольшой отек и незначительная лейкоцитарная инфильтрация подслизистого слоя; Рисунок 19 — полная эпителизация язвы и незначительная лейкоцитарная инфильтрация подслизистого слоя; и (Рисунок 20) небольшой отек и лейкоцитарная инфильтрация подслизистого слоя.

На Рисунке 20 также представлены гистологические срезы желудков крыс разных групп животных и изменения в желудке крыс с индометациновой язвой и ее лечение комплексом *R. tianschanicus* L. гематоксилин-эозином, увеличение x200.

Стенка желудка у лабораторных животных (крыс) была представлена железистым отделом, расположенным в центральной части желудка по большой кривизне. На препаратах отмечались кардиальный и частично граничащий с пилорическим отделы, с разной высотой железистого эпителия.

Результаты гистологического исследования в контрольной группе животных, получавших индометацин в дозе 25 мг/кг для индукции язвы, выявили выраженную инфильтрацию полиморфно-ядерными лейкоцитами собственной пластики слизистой и подслизистой оболочки в кардиальном

отделе желудка у всех этапы эксперимента (Рисунок 14). Тучные клетки и макрофаги часто присутствовали в подслизистой оболочке желудка. В экспериментальной группе с язвенной болезнью желудка капилляры и сосуды полнокровны, наблюдаются диапедезные кровоизлияния в подслизистый и мышечный слои. Железистый эпителий отечный, с выраженными десквамативными изменениями, имеющими очаговый характер. Встречались и более глубокие дефекты слизистой оболочки: очаговое десквамация эпителия достигало половины толщины слизистой оболочки, а у некоторых животных дефект эпителия распространялся на всю толщину (Рисунок 16). В группе профилактического введения наблюдалась частичная эпителизация язвенных дефектов, незначительно уменьшалась воспалительная клеточная инфильтрация при сохранении венозного полнокровия (Рисунок 17). В группе животных, получивших однократную инъекцию, язва эпителизовалась с неполным дефектом слизистой оболочки снизу желез, с полным восстановлением дефекта. Тогда как при поражении эпителия на всю толщину до подслизистой оболочки эпителизация была неполной, с признаками перестройки железы по пилорическому типу, начинающейся от краев язвенных дефектов (Рисунки 19, 20) [178].

Менее выраженные гемодинамические и десквамативные изменения эпителия наблюдались у животных при длительном применении на протяжении всего эксперимента (Рисунок 21). Дефекты слизистой оболочки были поверхностными, эпителизация была полной, но не сопровождалась реструктуризацией эпителия пилорического отдела.

Современные методы лечения расстройства ЖКТ приводят к серьезным побочным эффектам, были предприняты большие усилия по поиску менее токсичных альтернатив. Результат проведенных нами исследований из биологически активного комплекса *R. tianschanicus* L., было выделено шесть известных соединений флавоноидной (изорамнетин, кверцетин (рутин) и мирицетин) и антрахиноновой (фисцион, хризофанол и эмодин) природы [178].

Флавоноидом, который был достаточно подробно изучен, является рутин (кверцетин-3), природное производное флавонола. Сообщалось, что на животных моделях он предотвращает изъязвление слизистой оболочки желудка [179]. Цитопротекторный эффект этого флавоноида, по-видимому, не опосредован эндогенными простагландинами [180], но его защитные эффекты могут быть опосредованы эндогенным фактором активации тромбоцитов ФАТ (фактор активации тромбоцитов-сильный фосфолипидный медиатор воспаления) поскольку он дозозависимо ингибирует содержание ФАТ в слизистой оболочке [181].

Так же из изученных флавоноидов является кверцетин (пентагидроксифлавонол). Он защищает слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта от острых повреждений, вызванных различными экспериментальными моделями и от различных некротических агентов, включая окислительный стресс [182], аспирин [183] и индометацин [184]. Механизм его гастропротекторного действия включает эндогенный ФАТ (фактор активации тромбоцитов) [185], увеличение продукции слизи,

антигистаминные свойства, которые снижают уровень гистамина и уменьшают количество тучных клеток, индуцированных индометацином. Он также ингибирует образование кислоты париетальными клетками в ответ на стимуляцию гистамином, а также протонную помпу желудка H^+ / K^+ [186]. Основным механизмом гастропротекторного действия этого флавонола являются его антиоксидантные свойства, поскольку предварительное пероральное лечение кверцетином (200мг/кг) имело защитные эффекты, заключающиеся в значительном уменьшении тяжести язв, вызванных различными экспериментальными моделями как этанол и индометацин, за счет ингибирования перекисного окисления липидов, усиления в уровнях небелковых соединений слизистой оболочки (важных антиоксидантных агентов) [187, 188]. Этот флавоноид, помимо защиты слизистой оболочки желудка в острой модели индукции язвы, при хроническом применении кверцетина также способствует заживлению язв желудка, вызванных уксусной кислотой, хронической модели язвы [189].

Таким образом, как показали результаты Сисай У. и др. образующийся комплекс вторичных метаболитов, а именно флавоноидов, у близкородственных видов к *R. tianschanicus* L., может стимулировать важные клеточные механизмы, такие как пролиферация и миграция эпителиальных клеток, оказывает цитопротекторное действие. и запускает высвобождение простагландинов [190].

Эльсанхоти Р.М. и др. [191].также продемонстрировали, что антрахиноны стабилизируют тучные клетки, способствуя поддержанию оптимальной микроциркуляции в поврежденных тканях, снижая выработку гистамина и ослабляя повреждающее действие ульцерогена.

Полученные нами результаты полностью соответствуют и подтверждают данные этих исследователей, представленные ранее, а учитывая полученный противоязвенный эффект антрахинонов и флавоноидов, логично предположить, что гастропротекторная функция *R. tianschnicus* L. основана на комплексном местном действии экстракта на поврежденном участке слизистой оболочки желудка. Эти выводы подтверждается также макроморфологической оценкой поверхности слизистой оболочки желудка (СОЖ) и подсчетом количества пораженных участков, которое мы выражали с помощью индекса Паулса [192] на фоне профилактического и длительного перорального лечения комплексом на основе *R. tianschanicus* L. Таким образом, индекс противоязвенной активности комплекса составил 2,1 при длительном применении и 2,3 при профилактическом применении. Если результат больше 2,0, как продемонстрировали авторы, речь идет о положительной противоязвенной активности [178].

Комплекс восстанавливал защитную способность желудочных оболочек против агрессивного воздействия индометацина с сопутствующим увеличением синтеза простагландинов, постулируя его роль в увеличении количества слизи и его включении в профилактику язв [193–196].

В результате проведенного исследования можно сделать вывод, что комплекс на основе *R. tianschanicus* L., обладает противоязвенной активностью

в экспериментальных условиях, и, потенциально может иметь более широкий спектр физиологического действия, связанный с наличием противовоспалительных свойств.

3.5 Исследование противовоспалительной активности *R. tianschanicus* L. на модели формалинового отека лап

Воспалительный процесс регулируется множеством медиаторов, которые могут секретироваться специализированными клетками.

Вся совокупность медиаторов воспаления представляет собой сложную систему взаимозависимых элементов, в которой отношения между группами медиаторов определяют интенсивность и индивидуальные характеристики процесса воспаления.

Обобщенная схема острого воспаления включает инициацию за счет гистамина и серотонина, вызывающих увеличение проницаемости сосудов, последующую активацию систем кининов, комплемента и гемостаза и стимуляцию каскада арахидоновой кислоты за счет активации фосфолипазы A2 и накопления активных форм кислорода. Позднее в процесс включаются клеточные механизмы защиты, и происходит лейкоцитарная инфильтрация пораженных тканей [197].

Максимальное развитие отека при введении формалина, наблюдался у животных через 4-5 часа после введения флогогена [198].

Субплантарная инъекция формалина вызывает пролиферативного воспаления лапы мышей [199], которое развивается в результате повреждения клеток, что провоцирует выделение эндогенных медиаторов (гистамина, серотонина, простагландинов) [200].

Формалиновая проба предполагает двухфазную реакцию. Первая фаза (нейрогенная ноцицептивная реакция) возникает в первые 5 мин после инъекции формалина.

Вторая фаза (воспалительная ноцицептивная реакция) возникает через 15–30 минут после инъекции формалина.

Препараты центрального действия могут ингибировать обе фазы, тогда как препараты периферического действия, такие как НПВП, ингибируют только вторую фазу [201].

Полифенолы, выделенные из растительных источников как *R. tianschanicus* L. проявляют противовоспалительные свойства при воздействии на человеческий организм [21].

Противовоспалительное действие комплекса *R. tianschanicus* L., оценивали на модели гистаминового и формалинового отека лап мышей [202], результаты которых представлены в таблице 17 и 18.

Таблица 17 – Противовоспалительная активность биологически активного комплекса на модели отека лап мышей, индуцированного формалином

№гр /препарат	Средние значения отека стопы
Формалин	
контроль	50,69±5,31
Комплекс <i>R.tianschanicus</i> 100мг/кг	48,13±4,67
Диклофенак 10мг/кг	42,89±4,81
Примечание: * - противовоспалительная активность БАК <i>R.tianschanicus</i> L. на модели формалинового отека лап мышей $p \leq 0,05$	

Результаты исследования противовоспалительного действия БАК показано в таблице 17 составлял 48,13±4,67%, в группе сравнения (референс) препарат диклофенак продемонстрировал процент подавления отека на – 42,89±4,81%, в контрольной группе – 50,69±5,31%. Таким образом, комплекс *Rumex tianschanicus* L. в дозе 100 мг/кг на модели формалинового отека не обладает противовоспалительной активностью.

3.6 Исследование противовоспалительной активности комплекса *R. tianschanicus* L. на модели гистаминового отека лапы.

Таблица 18 – Противовоспалительная активность комплекса на модели отека лап мышей, индуцированного гистамином

№гр /препарат.	Средние значения отека стопы
Гистамин	
Контроль	26,65±3,34
Комплекс <i>R.tianschanicus</i> L. 100мг/кг	17,94±1,75*
Диклофенак 10мг/кг	16,03±1,56*
Примечание: * - противовоспалительная активность комплекса на модели гистаминового отека лапы мышей $p \leq 0,05$	

По результатам таблицы 18, исследования противовоспалительного действия комплекса *Rumex tianschanicus* L. на модели гистаминового отека выявлено, что введение комплекса *Rumex tianschanicus* в дозе 100 мг/кг, как и введение диклофенака (референс) в дозе 10 мг/кг, способствовало достоверному уменьшению воспалительного отека по сравнению с группой контроля. Процент воспалительного отека в опытной группе составлял 17,94±1,75%, в группе сравнения – 16,03±1,56%, в контроле – 26,65±3,34%. Таким образом, комплекс *Rumex tianschanicus* L. в дозе 100 мг/кг обладает противовоспалительной активностью сравнимой с референс препаратом.

3.7 Исследование антиоксидантной активности комплекса *Rumex tianschanicus* L.

Окислительный стресс, состояние, характеризующееся дисбалансом между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов, может оказывать существенное воздействие на организм.

Результаты антиоксидантной активности комплекса *Rumex tianschanicus* L., определенной с использованием пяти взаимодополняющих методов, а именно β -каротин-линолевой кислоты, DPPH, ABTS, CUPRAC и анализа хелатирования металлов, приведены в Таблице 19. Результаты исследования свидетельствуют о высокой антиоксидантной активности комплекса *Rumex tianschanicus* L. Антиоксидантная активность комплекса в тестах DPPH ($IC_{50} = 8.45 \pm 0.33 \mu\text{g/mL}$), ABTS ($IC_{50} = 5.68 \pm 0.21 \mu\text{g/mL}$), CUPRAC ($IC_{50} = 7.01 \pm 0.40 \mu\text{g/mL}$) оказалась выше, чем у стандартов антиоксидантов – α -токоферол и бутилгидроксианизол (БНА). В металлохелатировании, стандарт ЭДТА ($IC_{50} = 5,70 \pm 0,40 \mu\text{g/mL}$) была более активна, чем исследуемый экстракт ($IC_{50} = 38.54 \pm 1.05 \mu\text{g/mL}$), хотя активность комплекса умеренная (Таблица 19).

Таблица 19 - Антиоксидантная активность комплекса по данным β -каротин- линолевой кислоты, DPPH, ABTS, CUPRAC и методов хелатирования металлов

Образцы		Анализ β -каротино-линолевой кислоты	DPPH анализ	ABTS анализ	CUPRAC анализ	Metal chelating анализ
		IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$A_{0.50}$ ($\mu\text{g/mL}$)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Комплекс <i>R. tianschanicus</i>		5.21 ± 0.42	8.45 ± 0.33	5.68 ± 0.21	7.01 ± 0.40	38.54 ± 1.05
Станд.	α -Токоферол	2.10 ± 0.08	38.20 ± 0.41	35.51 ± 0.54	63.70 ± 0.81	NT ^b
	БНА	1.35 ± 0.03	19.80 ± 0.36	12.82 ± 0.06	25.40 ± 0.51	NT ^b
	EDTA	NT ^b	NT ^b	NT ^b	NT ^b	5.70 ± 0.40

^a Значения представляют собой средние значения $\pm$ SEM трех параллельных измерений выборки ($p < 0,05$).

^b NT: не тестировалось

Фенольные соединения обладают широким спектром биологической активности. Согласно литературным данным, антиоксидантную активность растительных препаратов обуславливают гидроксильные группы фенольного характера, в особенности полифенолы, такие как флавоноиды. Чем больше гидроксильных групп содержится в молекуле полифенола, тем более выражена его антиоксидантная активность.

Многие виды щавелей могут служить источником дубильных веществ из групп пирокатехина и пирогаллола, кроме того, содержат флавоноиды,

производные антрахинона и другие фенольные соединения, поэтому они перспективны как источники препаратов противовоспалительного и антиоксидантного действия [203-205].

Свободные радикалы и реакции с их участием играют важную роль в причинах возникновения многих заболеваний человека, а также в старении организма в целом. Антиоксиданты участвуют в регуляции протекания свободно-радикальных превращений в организме, существенно влияя на его состояние, поэтому исследование антиоксидантных свойств экстрактов и соединений в последнее время получили широкое распространение [206].

Известно, что многие фенольные соединения растений обладают антиоксидантной активностью. Выступая в роли ловушек свободных радикалов, флавоноиды способны тормозить перекисное окисление липидов, благодаря чему они являются потенциальными антиоксидантными средствами. Структура флавоноидов значительно влияет на биологическую активность. Увеличение количества гидроксильных групп в молекуле флавоноидов приводит к заметному увеличению их антиоксидантной активности. Гликозидирование флавонолов, так же, как и флавонов в общем, снижает их антиоксидантное воздействие. Эфиры галловой кислоты (метилловый, этиловый, пропиловый, бутиловый и додециловый) используются в качестве пищевых антиоксидантов в различных странах, включая США, Швецию, Бельгию, Данию и другие [207].

Существует несколько методов определения антиоксидантной активности. Химическая сложность экстрактов, часто представляющих собой смесь десятков соединений с различными функциональными группами, полярностью и химическим поведением, может привести к разрозненным результатам, в зависимости от используемого теста. Следовательно, комплексное использование различных методов позволяет более детально и полно оценить различные механизмы антиоксидантной активности многокомпонентных экстрактов [208]. В этом исследовании использовались в основном пять методов: метод отбеливания β -каротина, активность по улавливанию радикалов DPPH, активность по улавливанию катион-радикалов ABTS, хелатирующая активность металлов и антиоксидантная способность, снижающая медь. В связи с тем, что антиоксидантная активность экстрактов растений обусловлена химическим составом сырья и во многом определяется содержанием веществ фенольного характера, нами ранее проведен количественный анализ фенольных соединений, флавоноидов и дубильных веществ, выделены антрахиноны [177].

Результаты определения антиоксидантных свойств представлены в таблице 19. Комплекс *Rumex tianschanicus* L. проявляет высокую антиоксидантную активность.

Спектрофотометрический метод DPPH основан на спектрофотометрическом определении изменения концентрации стабильного хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (DPPH). Свободный радикал DPPH используется для анализа способности исследуемых образцов сырья приостанавливать цепные реакции радикального окисления.

Антиоксиданты, содержащиеся в комплексе *Rumex tianschanicus* L., отдают протоны радикалу, обесцвечивая фиолетовый цвет раствора DPPH. При этом снижается степень поглощения. Ингибирование более 50% свободных радикалов при наименьшей концентрации комплекса считается наилучшим результатом [209]. В основе другого метода оценки антиоксидантной активности изучаемого комплекса лежит реакция взаимодействия антиоксидантов с катион-радикалом 2,2'-азино-бис-(3-этилбензотиазолин-6-сульфоной кислоты) – ABTS^{•+}.

Результаты, полученные с использованием данного метода, по сравнению с методом с DPPH, имеют высокую корреляцию с содержанием фенольных соединений и ингибирующей активностью по отношению к комплексу [210,211]. Метод применим для определения как липофильных, так и гидрофильных антиоксидантов, включая флавоноиды. Выявлено, что комплекс в анализах DPPH ($IC_{50} = 8.45 \pm 0.33 \text{ } \mu\text{g/mL}$), ABTS ($IC_{50} = 5.68 \pm 0.21 \text{ } \mu\text{g/mL}$), проявляет более высокую активность по улавливанию радикалов, чем у стандартов антиоксидантов – α -токоферол и бутилгидроксианизол (БНА).

Метод CUPRAC использовали для оценки восстановительных свойств образцов. CUPRAC метод основан на способности антиоксидантов взаимодействовать с комплексом Cu(II) — неocupроин. При этом Cu(II) восстанавливается до Cu(I) и образует с неocupроином окрашенный комплекс (максимум поглощения в области 450 нм) [212]. Метод CUPRAC имеет ряд преимуществ по сравнению с другими фотометрическими методами определения антиоксидантов [213]. Обнаружено, что комплекс ($IC_{50} = 7.01 \pm 0.40 \text{ } \mu\text{g/mL}$) более активен, чем используемые α -токоферол ($IC_{50} = 63.70 \pm 0.81 \text{ } \mu\text{g/mL}$) и БНА ($IC_5 = 25.40 \pm 0.51 \text{ } \mu\text{g/mL}$)

При окислении полиненасыщенной линолевой кислоты она образует пероксиды, которые окисляют ионы Fe^{2+} до Fe^{3+} , образующие тиоцианат-комплексы. Антиоксидантная активность тем меньше, чем больше пероксидов. При изучении свойств комплекс *Rumex tianschanicus* L. выявлено, что комплекс способен ингибировать окисление полиненасыщенных жирных кислот и проявляет выраженные антиоксидантные свойства ($IC_{50} = 5.21 \pm 0.42 \text{ } \mu\text{g/mL}$).

Еще одним методом определения АОА является метод оценки снижения железо-радикальной активности. В металлохелатировании, стандарт ЭДТА ($IC_{50} = 5,70 \pm 0,40 \text{ } \mu\text{g/mL}$) была более активна, чем исследуемый комплекс ($IC_{50} = 38.54 \pm 1.05 \text{ } \mu\text{g/mL}$), хотя активность комплекса умеренная. Данная активность могла быть обусловлена присутствием в их составе флавоноидов и дубильных веществ смешанного типа, которые, согласно литературным данным, являются эффективными хелаторами ионов тяжелых металлов [214]. Кроме того, столь высокая хелатирующая активность может быть связана и с высоким содержанием полисахаридов, так же присутствующих в изучаемом комплексе.

Фенольные соединения комплекса из *Rumex tianschanicus* L., содержащие эмодин, фисцион, хризафанол, мирицетин, кверцетин, рутин, проявляют антиоксидантную и противовоспалительную активности.

Для изученного *Rumex tianschanicus* L. олеуропеин, генистеин и куркумин являются новыми соединениями. Ранее данные вещества были выделены из некоторых видов *Rumex* [215].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного комплексного исследования, с использованием фитохимических, фармакотоксикологических, биохимических методов, экспериментального моделирования язвы желудка в условиях *in vivo*, воспалительного отека лапы, индуцированный гистамином и формалином, оценки антиоксидантных свойств методами DPPH- теста, ABTS, CUPRAC, были установлены новые научные данные по биологическим механизмам влияния биологически активного комплекса на основе корней *R. tianschanicus* L на организм лабораторных животных и была доказана безопасность и лечебный эффект комплекса из корней *R. tianschanicus* L.

На основании полученных данных, были сделаны следующие выводы:

1. Выявлено фитохимическими исследованиями, что в экстракте корней *R. tianschanicus* L., произрастающего на территории Казахстана высокое содержание флавоноидов, антрахинонов и фенольных соединений;

2. Токсико-фармакологические исследования показали, что комплекс на основе корней растения *R. tianschanicus* L. вызывает статистически достоверное ($p \leq 0,05$) снижение общей массы тела и массовых коэффициентов органов лабораторных животных;

3. Статистически достоверные ($p < 0,05$) изменения количества форменных элементов периферической крови, в то время как, гемопоэз на фоне перорального Комплекс на основе корней *R. tianschanicus* L. вызывает введения комплекса не изменен;

4. Впервые показано, что комплекс на основе корней *R. tianschanicus* L. проявляет выраженную противоязвенную активность, достоверно уменьшая количество очагов язвенного поражения слизистой оболочки желудка, а индекс противоязвенной активности комплекса при длительном применении составляет- 2,1 и 2,3- при профилактическом применении.

5. Показано, что комплекс на основе корней *R. tianschanicus* L. на модели гистаминового отека лапы мышей проявляет противовоспалительную активность аналогичную референс препарату - диклофенаку, что подтверждается статистически достоверным ($p \leq 0,05$) снижением массы лапы до $17,94 \pm 1,75\%$, референс- препарата - $16,03 \pm 1,56\%$;

6. Установлено, что комплекс на основе корней *R. tianschanicus* L. на основании показателей DPPH -теста, ABTS, CUPRAC и метода хелатирования металлов, обладает антиоксидантными свойствами, что подтверждается статистически достоверным снижением ($p \leq 0,05$) показателей в тестах DPPH ($IC_{50} = 8,45 \pm 0,33 \text{ } \mu\text{g/mL}$), ABTS ($IC_{50} = 5,68 \pm 0,21 \text{ } \mu\text{g/mL}$), CUPRAC ($IC_{50} = 7,01 \pm 0,40 \text{ } \mu\text{g/mL}$).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чубин А. Н. Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки желудка собак в зависимости от способов лечения язвенной болезни в эксперименте //Диссдокт. вет. наук, Благовещенск. – 2008. – Т. 301.
2. Tarnawski A., Ahluwalia A., K Jones M. Gastric cytoprotection beyond prostaglandins: cellular and molecular mechanisms of gastroprotective and ulcer healing actions of antacids //Current pharmaceutical design. – 2013. – Т. 19. – №. 1. – С. 126-132.
3. Manrai M. Jha A.A. Dawra S. Pachisia A.V. Biologics, Small Molecules and More in Inflammatory Bowel Disease: The Present and the Future //Future Pharmacology. – 2024. – Т. 4. – №. 1. – С. 279-316.
4. Циммерман Я. С., Циммерман И. Я. Гастродуоденальные эрозивно-язвенные повреждения, индуцированные приемом нестероидных противовоспалительных препаратов //Клиническая медицина. – 2008. – Т. 86. – №. 2. – С. 8-14.
5. Звонок А. М. и др. Разработка препаратов, угнетающих развитие микроорганизмов в СОЖ, с целью увеличения срока ее эксплуатации. – 1999.
6. Ливзан М. А., Гаус О. В., Мозговой С. И. Хронический атрофический гастрит: тактика курации пациента. РМЖ //Медицинское обозрение. – 2021. – Т. 5. – №. 6. – С. 427-32.
7. Annibale B., Esposito G., Lahner E. A current clinical overview of atrophic gastritis //Expert review of gastroenterology & hepatology. – 2020. – Т. 14. – №. 2. – С. 93-102.
8. Мусаева Э.М. и др. Возможности фармакологической коррекции патологий гепатобилиарной системы //Вестник Российской Военно-Медицинской Академии. – 2018. – Т. 20. – №. 2. – С. 221-225.
9. De Sales I.R. Formiga, R.D. Machado F.D Nascimento R.F. Pessoa M.M. Barros M.E. Batista L.M. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of Cissampelos sympodialis Eichl. in animal models //Journal of ethnopharmacology. – 2018. – Т. 222. –С. 190-200.
10. Kornhuber J. Tripal P. Reichel M. Mühle C. Rhein C. Muehlbacher M. Gulbins E. Functional Inhibitors of Acid Sphingomyelinase (FIASMA)s: a novel pharmacological group of drugs with broad clinical applications //Cellular Physiology and Biochemistry. – 2010. – Т. 26. – №. 1. – С. 9-20.
11. Muir J.C. Von Gunten C.F. Antisecretory agents in gastrointestinal obstruction //Clinics in geriatric medicine. – 2000. – Т.16. – №.2. –С. 327-334.
12. Kurlander J.E. Barnes G.D. Fisher A. Gonzalez J. J. Helminski D. Saini S.D. Laine L. Association of antisecretory drugs with upper gastrointestinal bleeding in patients using oral anticoagulants: a systematic review and meta-analysis //The American journal of medicine. – 2022. – Т. 135. – №. 10. – С. 1231-1243.
13. Фаустова Н. М. и др. Особенности ферментного спектра пищеварительного тракта лабораторных животных и человека //Международный вестник ветеринарии. – 2016. – №. 2. – С. 125-146.

14. Schneeman B. O., Gallaher D. Changes in small intestinal digestive enzyme activity and bile acids with dietary cellulose in rats //The Journal of nutrition. – 1980. – Т. 110. – №. 3. – С. 584-590.
15. DeSesso J. M., Jacobson C. F. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats //Food and chemical toxicology. – 2001. – Т. 39. – №. 3. – С. 209-228.
16. Canani R. B. et al. Therapy with gastric acidity inhibitors increases the risk of acute gastroenteritis and community-acquired pneumonia in children //Pediatrics. – 2006. – Т. 117. – №. 5. – С. e817-e820.
17. Szabo S. “Gastric cytoprotection” is still relevant //Journal of gastroenterology and hepatology. – 2014. – Т. 29. – С. 124-132.
18. Ishiyama S. et al. Structure of the Dnmt1 reader module complexed with a unique two-mono-ubiquitin mark on histone H3 reveals the basis for DNA methylation maintenance //Molecular cell. – 2017. – Т. 68. – №. 2. – С. 350-360. e7.
19. Денисова Е. В., Назаров В. Е. Анализ многолетней динамики заболеваемости язвенной болезнью до и после введения в лечение эрадикационной терапии //Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2011. – №. 2-3. – С. 8-10.
20. Тихонов А. И., Ярных Т. Г., Данькевич О. С. Фармакотерапия язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки //Провизор. – 1999. – №. 5. – С. 8.
21. Bello O. M. et al. Wild vegetable *Rumex acetosa* Linn.: Its ethnobotany, pharmacology and phytochemistry–A review //South African Journal of Botany. – 2019. – Т. 125. – С. 149-160.
22. Vasas A., Orbán-Gyapai O., Hohmann J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology //Journal of ethnopharmacology. – 2015. – Т. 175. – С. 198-228.
23. Podgurskaya V. V. et al. Biological activity of the genus *Rumex* (Polygonaceae) plants //Chem. Plant Raw Mater. – 2021. – Т. 2. – С. 59-78.
24. El-Hawary S. A. et al. A profile of bioactive compounds of *Rumex vesicarius* L //Journal of food science. – 2011. – Т. 76. – №. 8. – С. C1195-C1202.
25. Shafiq N. et al. Isolation of bioactive compounds from *Rumex hastatus* extract and their biological evaluation and docking study as potential anti-oxidant and anti-urease agents //Journal of Food Biochemistry. – 2020. – Т. 44. – №. 8. – С. e13320.
26. Тупицына Н. Н. Аннотированный список видов *Rumex* LSL (Polygonaceae Juss.) флоры южной части Красноярского края //Систематические заметки по материалам Гербария им. ПН Крылова Томского государственного университета. – 2014. – №. 109. – С. 39-48.
27. Zaller J. G. Ecology and non-chemical control of *Rumex crispus* and *R. obtusifolius* (Polygonaceae): a review //Weed research. – 2004. – Т. 44. – №. 6. – С. 414-432.
28. Tukappa NK A. et al. Cytotoxicity and hepatoprotective attributes of methanolic extract of *Rumex vesicarius* L //Biological research. – 2015. – Т. 48. – С. 1-9.

29. Hafaz M. F. et al. Potential Assessment of *Rumex* spp. as a source of bioactive compounds and biological activity //Biointerface Res. Appl. Chemi. – 2022. – Т. 12. – С. 1824-1834.
30. Beal G.D., Okey R. E. A proximate analysis of *Rumex crispus*, and a comparison of its hydroxy-methyl-anthraquinones with those from certain other drugs //Journal of the American Chemical Society. – 1919. – Т. 41. – №. 4. – С. 693-706.
31. Правдивцева О. Е. и др. Актуальные вопросы стандартизации антраценсодержащих видов лекарственного растительного сырья, включенных в государственную фармакопею Российской Федерации //Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – №. 12-2. – С. 272-276.
32. Зайцева Н. В. Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского *Rumex confertus* Willd //Самара: Самарский государственный медицинский университет.–2014.
33. Felger R.S., Moser M.B. Seri Indian pharmacopoeia //Economic Botany. – 1973. – Т. 28. – С. 415-436.
34. Wegiera M. et al. Anthracene derivatives in some species of *Rumex* L. genus //Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 2007. – Т. 76. – №2.
35. Podgurskaya V. V. et al. Biological activity of the genus *Rumex* (Polygonaceae) plants //Chem. Plant Raw Mater. – 2021. – Т. 2. – С. 59-78.
36. Флора Казахстана. – Алма-Ата: АН КазССР, 1960. – т. 3. – С. 92-102.
37. Грудзинская Л. М. и др. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана //Справочное издание. Алматы. – 2014.
38. Гемеджиева Н. Г., Грудзинская Л. М. Аннотированный список лекарственных растений Казахстана. – 2008.
39. Muzychkina R. A., Kurbatova N. V., Korulkin D. Y. Компонентный состав и биологическая активность полифенольных метаболитов *Rumex tianschanicus* A. Los //Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2016. – Т. 69. – №. 4. – С. 22-31.
40. Lowe H. et al. Antiviral activity of Jamaican medicinal plants and isolated bioactive compounds //Molecules. – 2021. – Т. 26. – №. 3. – С. 607.
41. Tran N., Pham B., Le L. Bioactive compounds in anti-diabetic plants: From herbal medicine to modern drug discovery //Biology. – 2020. – Т. 9. – №. 9. – С. 252.
42. Fu Y. et al. Screening techniques for the identification of bioactive compounds in natural products //Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2019. – Т. 168. – С. 189-200.
43. Moussaoui F., Alaoui T. Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants //Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2016. – Т. 6. – №. 1. – С. 32-37.
44. Berillo D., Kozhahmetova M., Lebedeva L. Overview of the biological activity of anthraquinones and flavanoids of the plant *rumex* species //Molecules. – 2022. – Т. 27. – №. 4. – С. 1204.
45. Музычкина Р.А. Природные антрахиноны. – М.: Фазис, 1998. – 86411.

46. Корулькин Д.Ю., Музычкина Р.А., Абилов Ж.А., Толстиков Г.А. Природные флавоноиды. – Новосибирск: Гео, 2007. – 232 с.
47. Havsteen B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids //Pharmacology & therapeutics. – 2002. – Т. 96. – №. 2-3. – С. 67-202.
48. Beecher G. R. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake //The Journal of nutrition. – 2003. – Т. 133. – №. 10. – С. 3248S-3254S.
49. Ross J. A., Kasum C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety //Annual review of Nutrition. – 2002. – Т. 22. – №. 1. – С. 19-34.
50. Litvinenko Y. A., Muzychkina R. A. Phytochemical investigation of biologically active substances in certain Kazakhstan Rumex species. 1 //Chemistry of natural compounds. – 2003. – Т. 39. – С. 446-449.
51. Tynybekov B. M. et al. Phytochemical investigation of the roots of Rumex confertus W. grown in the culture. – 2013.
52. Литвиненко Ю. А., Музычкина Р. А. Антрахиноны корней некоторых казахстанских видов щавелей (Rumex) //Н 766 Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья. – С. 230.
53. Музычкина Р.А., Корулькин Д.Ю. Методология исследования растительных метаболитов. – Алматы: MV-Print, 2012. – 324 с.
54. Shafiq N. et al. Investigation of genus Rumex for their biologically active constituents //Pharm Chem Sci. – 2017. – Т. 2. – С. 148-165.
55. Гемеджиева Н. Г. и др. Оценка сырьевой базы щавеля тяньшанского в горных регионах юго-востока Казахстана //Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2023. – Т. 22. – №. 1. – С. 97-101.
56. Гемеджиева Н. Г., Димеева Л. А. Комплексная кадастровая оценка ботанического разнообразия регионов Казахстана как научная основа эффективного использования их ресурсного потенциала //Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. – 2022. – Т. 21. – №. 1. – С. 34-38.
57. Кутателадзе Г. Р. Прогнозирование фармакологической активности биологически активных соединений Rumicis acetosae herba методом in silico //Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2022. – Т. 21. – №. S2. – С. 80-81.
58. Подгурская В. В. и др. Биологическая активность растений рода Rumex (Polygonaceae) //Химия растительного сырья. – 2021. – №. 2. – С. 59-78.
59. Frusciante L. et al. Phytochemical Composition, Anti-Inflammatory Property, and Anti-Atopic Effect of Chaetomorpha linum Extract //Marine Drugs. – 2024. – Т. 22. – №. 5. – С. 226.
60. Savchenko T. et al. Therapeutic potential of plant oxylipins //International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Т. 23. – №. 23. – С. 14627.
61. El-Hawary S. A. et al. A profile of bioactive compounds of Rumex vesicarius L //Journal of food science. – 2011. – Т. 76. – №. 8. – С. C1195-C1202.
61. Shafiq N. et al. Isolation of bioactive compounds from Rumex hastatus extract and their biological evaluation and docking study as potential anti-oxidant and anti-urease agents //Journal of Food Biochemistry. – 2020. – Т. 44. – №. 8. – С. e13320.

62. Mueller S. O., Stopper H. Characterization of the genotoxicity of anthraquinones in mammalian cells //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. – 1999. – T. 1428. – №. 2-3. – C. 406-414.
63. Tikhomirov A. S., Shtil A. A., Shchekotikhin A. E. Advances in the discovery of anthraquinone-based anticancer agents //Recent patents on anti-cancer drug discovery. – 2018. – T. 13. – №. 2. – C. 159-183.
64. Tutin F., Clewer H. W. B. XCIX.—The constituents of rhubarb //Journal of the Chemical Society, Transactions. – 1911. – T. 99. – C. 946-967.
65. Dai X. et al. Comparative pharmacokinetics of rhein and chrysophanol after oral administration of Quyu Qingre granules in normal and acute blood stasis rabbits //Journal of ethnopharmacology. – 2014. – T. 153. – №. 2. – C. 338-343.
66. Tu Y. et al. Dahuang Fuzi Decoction ameliorates tubular epithelial apoptosis and renal damage via inhibiting TGF- β 1-JNK signaling pathway activation in vivo //Journal of ethnopharmacology. – 2014. – T. 156. – C. 115-124.
67. Luo L., Wang S. M. Study on chemical components in yiqing capsule based on UPLC-ESI-MS-MS and FTIR and its anti-inflammatory activity in vitro //Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese Medicinal Materials. – 2013. – T. 36. – №. 4. – C. 654-657.
68. Rim HongKun R. H. K. et al. SoSoSo or its active ingredient chrysophanol regulates production of inflammatory cytokines & adipokine in both macrophages & adipocytes. – 2013.
69. Shia C. S. et al. Metabolism and pharmacokinetics of San-Huang-Xie-Xin-Tang, a polyphenol-rich Chinese medicine formula, in rats and ex-vivo antioxidant activity //Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM. – 2011. – T. 2011.
70. Süleyman H. et al. Effects of Rumex patientia root extract on indomethacine and ethanol induced gastric damage in rats //Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2004. – T. 59. – №. 2. – C. 147-149.
71. Chen S. H. et al. Aloe-emodin-induced apoptosis in human gastric carcinoma cells //Food and chemical toxicology. – 2007. – T. 45. – №. 11. – C. 2296-2303.
72. Hu Y. et al. Comparative transcriptome analysis of different tissues of *Rheum tanguticum* Maxim. ex Balf.(Polygonaceae) reveals putative genes involved in anthraquinone biosynthesis //Genetics and molecular biology. – 2022. – T. 45. – C. e20210407.
73. Prateeksha et al. Chrysophanol: a natural anthraquinone with multifaceted biotherapeutic potential //Biomolecules. – 2019. – T. 9. – №. 2. – C. 68.
74. Tikkanen L., Matsushima T., Natori S. Mutagenicity of anthraquinones in the Salmonella preincubation test //Mutation Research/Genetic Toxicology. – 1983. – T. 116. – №. 3-4. – C. 297-304.
75. Venkatapathy R., Moudgal C. J., Bruce R. M. Assessment of the oral rat chronic lowest observed adverse effect level model in TOPKAT, a QSAR software package for toxicity prediction //Journal of chemical information and computer sciences. – 2004. – T. 44. – №. 5. – C.1623-1629.

76. Лапина Т. Л. Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки //Справочник поликлинического врача. – 2004. – №. 1. – С. 19-23.
77. Narayanan M., Reddy K. M., Marsicano E. Peptic ulcer disease and *Helicobacter pylori* infection //Missouri medicine. – 2018. – Т. 115. – №. 3. – С. 219.
78. Laine L., Takeuchi K., Tarnawski A. Gastric mucosal defense and cytoprotection: bench to bedside //Gastroenterology. – 2008. – Т. 135. – №. 1. – С. 41-60.
79. Buckley C. D., Gilroy D. W., Serhan C. N. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation //Immunity. – 2014. – Т. 40. – №. 3. – С. 315-327.
80. Sostres C. et al. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract //Best practice & research Clinical gastroenterology. – 2010. – Т. 24. – №. 2. – С. 121-132.
81. Park S., Im J. A., Kim J. Y. Exploring the Effect of Deep-Sea Water on the Therapeutic Potential of the Anti-Inflammatory Response in an Indomethacin-Induced Gastric Ulcer Rat Model //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 24. – С. 17430.
82. Guzmán-Gómez O. et al. Protective effect of the phycobiliproteins from *arthrospira maxima* on indomethacin-induced gastric ulcer in a Rat model //Plants. – 2023. – Т. 12. – №. 8. – С. 1586.
83. Zhou D. et al. Gastroprotective effect of gallic acid against ethanol-induced gastric ulcer in rats: Involvement of the Nrf2/HO-1 signaling and anti-apoptosis role //Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2020. – Т. 126. – С. 110075.
84. Peng H., Chen F. E. Recent advances in asymmetric total synthesis of prostaglandins //Organic & biomolecular chemistry. – 2017. – Т. 15. – №. 30. – С. 6281-6301.
85. Ricciotti E., FitzGerald G. A. Prostaglandins and inflammation //Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology. – 2011. – Т. 31. – №. 5. – С. 986-1000.
86. Kirkby N. S. et al. Systematic study of constitutive cyclooxygenase-2 expression: Role of NF- κ B and NFAT transcriptional pathways //Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2016. – Т. 113. – №. 2. – С. 434-439.
87. Park S., Im J. A., Kim J. Y. Exploring the Effect of Deep-Sea Water on the Therapeutic Potential of the Anti-Inflammatory Response in an Indomethacin-Induced Gastric Ulcer Rat Model //International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Т. 24. – №. 24. – С. 17430.
88. Dhikav V. et al. Non-steroidal drug-induced gastrointestinal toxicity: mechanisms and management //J Indian Acad Clin Med. – 2003. – Т. 4. – №. 4. – С. 315-322.
89. Banerjee D. et al. Gastroprotective properties of *Myristica malabarica* against indometacin-induced stomach ulceration: a mechanistic exploration //Journal of Pharmacy and Pharmacology. – 2007. – Т. 59. – №. 11. – С. 1555-1565.
90. Naito Y. et al. Role of oxygen radical and lipid peroxidation in indomethacin-induced gastric mucosal injury //Digestive diseases and sciences. – 1998. – Т. 43. – №. 9 Suppl. – С. 30S-34S.

91. Neamatallah T. Caffeic acid phenethyl ester attenuates indomethacin-induced gastric ulcer in rats //Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. – 2024. – T. 397. – №. 3. – С. 1791-1801.
92. Mehta D., Bhargava D. K. Non-steroidal anti inflammatory drugs and gastrointestinal toxicity //Apollo Medicine. – 2010. – T. 7. – №. 4. – С. 251-262.
93. Chakraborty S. et al. A bis-resorcinol resveratrol congener prevents indomethacin-induced gastric ulceration by inhibiting TNF- α as well as NF- κ B and JNK pathways //Free Radical Research. – 2019. – T. 53. – №. 6. – С. 596-610.
94. Neamatallah T. Caffeic acid phenethyl ester attenuates indomethacin-induced gastric ulcer in rats //Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. – 2024. – T. 397. – №. 3. – С. 1791-1801.
95. Yoshikawa T., Naito Y. The role of neutrophils and inflammation in gastric mucosal injury //Free radical research. – 2000. – T. 33. – №. 6. – С. 785-794.
96. Hussain T. et al. Exploiting anti-inflammation effects of flavonoids in chronic inflammatory diseases //Current Pharmaceutical Design. – 2020. – T. 26. – №. 22. – С. 2610-2619.
97. Косарев В. В., Бабанов С. А., Астахова А. В. Фармакология и лекарственная терапия. – 2009.-275 с.
98. Tuskey A., Peura D. The use of H₂ antagonists in treating and preventing NSAID-induced mucosal damage //Arthritis research & therapy. – 2013. – T. 15. – С. 1-7.
99. Харкевич Д. А. Фармакология. – 2005.
100. Piao Y. L. et al. Wound healing effects of new 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase inhibitors //Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. – 2014. – T. 91. – №. 6. – С. 325-332.
101. Szabo S. “Gastric cytoprotection” is still relevant //Journal of gastroenterology and hepatology. – 2014. – T. 29. – С. 124-132.
102. Komasa M. et al. Antisecretory effect of somatostatin on gastric acid via inhibition of histamine release in isolated mouse stomach //European journal of pharmacology. – 2002. – T. 452. – №. 2. – С. 235-243.
103. Shin J. M., Sachs G. Pharmacology of proton pump inhibitors //Current gastroenterology reports. – 2008. – T. 10. – №. 6. – С. 528-534.
104. Shin J. M. et al. The site of action of pantoprazole in the gastric H⁺/K⁺-ATPase //Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. – 1993. – T. 1148. – №. 2. – С. 223-233.
105. Sostres C., Gargallo C. J., Lanas A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and upper and lower gastrointestinal mucosal damage //Arthritis research & therapy. – 2013. – T. 15. – С. 1-8.
106. Matsui H. et al. The pathophysiology of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced mucosal injuries in stomach and small intestine //Journal of clinical biochemistry and nutrition. – 2011. – T. 48. – №. 2. – С. 107-111.
107. Burdan F., Burak B., Sek A. Level of malondialdehyde after short-time omeprazole administration //Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research. – 2001. – T. 7. – №. 1. – С. 89-92.

108. Książczyńska D., Szelańska A., Paradowski L. Overuse of proton pump inhibitors //Pol Arch Med Wewn. – 2015. – T. 125. – №. 4. – C. 289-98.
109. Schubert M. L. Physiologic, pathophysiologic, and pharmacologic regulation of gastric acid secretion //Current opinion in gastroenterology. – 2017. – T. 33. – №. 6. – C. 430-438.
110. Hagiwara T. et al. Long-term proton pump inhibitor administration worsens atrophic corpus gastritis and promotes adenocarcinoma development in Mongolian gerbils infected with *Helicobacter pylori* //Gut. – 2011. – T. 60. – №. 5. – C. 624-630.
111. Hasanin A. H. Impact of omeprazole on bone remodeling in normal and ovariectomized Wistar rats //European Review for Medical & Pharmacological Sciences. – 2014. – T. 18. – №. 13.
112. O'Connell M. B. et al. Effects of proton pump inhibitors on calcium carbonate absorption in women: a randomized crossover trial //The American journal of medicine. – 2005. – T. 118. – №. 7. – C. 778-781.
113. Thongon N. et al. Omeprazole suppressed plasma magnesium level and duodenal magnesium absorption in male Sprague-Dawley rats //Pflügers Archiv-European Journal of Physiology. – 2016. – T. 468. – C. 1809-1821.
114. Suzuki T. et al. Comparison of effect of an increased dosage of vonoprazan versus vonoprazan plus lafutidine on gastric acid inhibition and serum gastrin //European Journal of Clinical Pharmacology. – 2018. – T. 74. – C. 45-52.
115. Lauritsen K., Rask-Madsen J. Prostaglandin analogues //Baillière's Clinical Gastroenterology. – 1988. – T. 2. – №. 3. – C. 621-628.
116. Izzettin F. V. et al. Comparison of the protective effects of various antiulcer agents alone or in combination on indomethacin-induced gastric ulcers in rats //Experimental and toxicologic pathology. – 2012. – T. 64. – №. 4. – C. 339-343.
117. Lai K. C. et al. A retrospective and prospective study on the safety of discharging selected patients with duodenal ulcer bleeding on the same day as endoscopy //Gastrointestinal endoscopy. – 1997. – T. 45. – №. 1. – C. 26-30.
118. Szabo S., Tolstanova G. New molecules as drug candidates for the treatment of upper and lower GI tract ulcers //Current Pharmaceutical Design. – 2015. – T. 21. – №. 21. – C. 2993-3001.
119. Patro S. K. et al. Studies on gastroprotective activity of ethyl acetate leave fraction obtained from *Canthium coromandelicum* (Burm. f.) Alston in albino rats //IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences. – 2014. – T. 9. – №. 5. – C. 52-64.
120. Agrawal N. M. et al. Misoprostol compared with sucralfate in the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric ulcer: a randomized, controlled trial //Annals of internal medicine. – 1991. – T. 115. – №. 3. – C. 195-200.
121. Miyaura C. et al. Impaired bone resorption to prostaglandin E2 in prostaglandin E receptor EP4-knockout mice //Journal of Biological Chemistry. – 2000. – T. 275. – №. 26. – C. 19819-19823.
122. Rasmussen S. T. et al. Simvastatin and oxidative stress in humans: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial //Redox Biology. – 2016. – T. 9. – C. 32-38.

123. Meijer J. L. et al. Effect of enprostil on serum gastrin and pepsinogen A and C levels in patients on long-term treatment with omeprazole //Alimentary pharmacology & therapeutics. – 1994. – Т. 8. – №. 2. – С. 221-227.
124. Ebada S. S. et al. In vivo antiulcer activity, phytochemical exploration, and molecular modelling of the polyphenolic-rich fraction of *Crepis sancta* extract //Inflammopharmacology. – 2020. – Т. 28. – С. 321-331.
125. Al-Khayri J. M. et al. Comparative Quantification of the Phenolic Compounds, Piperine Content, and Total Polyphenols along with the Antioxidant Activities in the *Piper trichostachyon* and *P. nigrum* //Molecules. – 2022. – Т. 27. – №. 18. – С. 5965.
126. Шокан А. К. и др. *Rumex tianschanicus* L. негізіндегі биологиялық белсенді кешендердің қасиеттерін созылмалы уыттылық тәжірибесінде зерттеу //Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2022. – Т. 92. – №. 3. – С. 180-187.
127. Guerrero C. P., Martin M. J., Marhuenda E. Prevention by rutin of gastric lesions induced by ethanol in rats: role of endogenous prostaglandins //General Pharmacology: The Vascular System. – 1994. – Т. 25. – №. 3. – С. 575-580.
128. Rao C. V. et al. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related gastric mucosal damage in rats //Natural Product Sciences. – 2003. – Т. 9. – №. 2. – С. 68-72.
129. Barnaulov O. D. et al. Effect of flavonoids from the aerial parts of *Astragalus quisqualis* Bunge and *A. floccosifolius* on experimental gastric destruction in mice. – 1985.
130. de Lira Mota K. S. et al. Flavonoids with gastroprotective activity //Molecules. – 2009. – Т. 14. – №. 3. – С. 979-1012.
131. Williams C. A., Grayer R. J. Anthocyanins and other flavonoids //Natural product reports. – 2004. – Т. 21. – №. 4. – С. 539-573.
132. Государственная фармакопея Республики Казахстан, Т.1, Издательский дом «Жибек Жолы», Алматы, 2008, с. 565-567.
133. Государственная Фармакопея Республики Казахстан // В 3 т. – Алматы: Издательский дом «Жибек Жолы», 2009. – Т. 2. – 804 с.
134. Тулегенова, А.Ю.; Бердимуратова, Г.Д.; Даулетбакова, ФД; Адекенов С.М.; Арыстанова С.Н.; Баймуханов С.А.; Дерновой, А.Г.; Кузденбаева Р.С.; Локшин В.Н.; Муминов, Т.А. Государственная фармакопея Республики Казахстан, 1-е изд.; Жибек Жолы: Алматы, Казахстан, 2008 г.; Том 1, с. 592.
135. Тулегенова, А.Ю.; Бердимуратова, Г.Д.; Пучкина, Л.Д.; Арыстанова С.Н.; Баймуханов С.А.; Доскалиев З.А.; Кузденбаева Р.С.; Локшин В.Н.; Пак, Л.И.-Б.; Сабденальев, д.м. Государственная фармакопея Республики Казахстан, 1-е изд.; Жибек Жолы: Алматы, Казахстан, 2009; Том 2, с. 802.
136. Саканян Е. И. и др. Вопросы стандартизации свежего лекарственного растительного сырья //Фармация. – 2015. – №. 7. – С. 46-48.
137. Мелентьева Т. А. и др. Разработка проектов общих фармакопейных статей" определение общей золы"," определение сульфатной золы"," определение золы, не растворимой в кислоте хлористоводородной" //Фармация. – 2005. – №. 4. – С. 3-4.

138. Жапаркулова К. А. и др. Определение фармако-технологических параметров и фармакопейных показателей качества лекарственного растительного сырья зизифоры бунге //Вестник Алматинского технологического университета. – 2016. – №. 1. – С. 82-87.
139. Бакова Е. Ю. и др. Минеральный и аминокислотный состав листьев *Myrtus communis* L //Химия растительного сырья. – 2019. – №. 3. – С. 217-223.
140. Cheung L. M., Cheung P. C. K., Ooi V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts //Food chemistry. – 2003. – Т. 81. – №. 2. – С. 249-255.
141. Chang C. C. et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods //Journal of food and drug analysis. – 2002. – Т. 10. – №. 3.
142. Sun B., Ricardo-da-Silva J. M., Spranger I. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins //Journal of agricultural and food chemistry. – 1998. – Т. 46. – №. 10. – С. 4267-4274.
143. Jabbar A. A. et al. GC-MS Analysis of Bioactive Compounds in Methanolic Extracts of *Papaver decaisnei* and Determination of Its Antioxidants and Anticancer Activities //Journal of Food Quality. – 2022. – Т. 2022. – №. 1. – С. 1405157.
144. Правила проведения доклинических исследований, биомедицинских экспериментов и клинических исследований в Республике Казахстан» (от 25 июля 2007 г. № 442).
145. Гольдберг Д. И., Гольдберг Е. Д. Справочник по гематологии с атласом микрофотограмм. – Рипол Классик, 2013.
146. Pauls F., Wick A. N., MacKay E. M. Inhibition of gastric ulceration in the rat by o-hydroxybenzoic (salicylic) acid //Science. – 1948. – Т. 107. – №. 2766. – С. 19-20.
147. Крылова С. Г. и др. Влияние экстракта корня цикория на морфофункциональное состояние печени у крыс с токсическим гепатитом //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69. – №. 6. – С. 34-36.
148. Музалева Н. В., Пшуков Ю. Г., Соловей Н. В. Способ получения лекарственной формы противовоспалительного симптоматического действия. – 2000.
149. Derelanko M. J., Long J. F. Effect of corticosteroids on indomethacin-induced intestinal ulceration in the rat //Digestive Diseases and Sciences. – 1980. – Т. 25. – С. 823-829.
150. Satoh H., Amagase K., Takeuchi K. Mucosal protective agents prevent exacerbation of NSAID-induced small intestinal lesions caused by antisecretory drugs in rats //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2014. – Т. 348. – №. 2. – С. 227-235.
151. Zaghlool S. S. et al. Comparison between the protective effects of famotidine, ginger and marshmallow on pyloric ligation-induced peptic ulcer in rats //Journal of Bioequivalence & Bioavailability. – 2015. – Т. 7. – №. 4. – С. 1.

152. Marco G. J. A rapid method for evaluation of antioxidants //Journal of the American Oil Chemists' Society. – 1968. – Т. 45. – №. 9. – С. 594-598.
153. Öztürk M. et al. Evaluation of fruit extracts of six Turkish Juniperus species for their antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activities //Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2011. – Т. 91. – №. 5. – С. 867-876.
154. Re R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay //Free radical biology and medicine. – 1999. – Т. 26. – №. 9-10. – С. 1231-1237.
155. Öztürk M. Anticholinesterase and antioxidant activities of Savoury (*Satureja thymbra* L.) with identified major terpenes of the essential oil //Food Chemistry. – 2012. – Т. 134. – №. 1. – С. 48-54.
156. Decker E. A., Welch B. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food //Journal of Agricultural and food Chemistry. – 1990. – Т. 38. – №. 3. – С. 674-677.
157. Apak R. et al. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method //Journal of agricultural and food chemistry. – 2004. – Т. 52. – №. 26. – С. 7970-7981.
158. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – Рипол Классик, 1969.
159. Li X. et al. Changes in physicochemical properties, metabolites and antioxidant activity of edible grass during spontaneous fermentation //Fermentation. – 2023. – Т. 9. – №. 4. – С. 377.
160. Sharma G. et al. *Rumex nepalensis* Spreng. *Rumex hastatus* D. Don *Rumex longifolius* DC. Polygonaceae //Ethnobotany of the Himalayas. – Cham : Springer International Publishing, 2021. – С. 1-19.
161. Li X. et al. Changes in physicochemical properties, metabolites and antioxidant activity of edible grass during spontaneous fermentation //Fermentation. – 2023. – Т. 9. – №. 4. – С. 377.
162. Jaradat N. et al. Isolation, identification, and antimycotic activity of plumbagin from *Plumbago europaea* L. roots, leaves and stems //Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2021. – Т. 34. – №. 4.
163. Valente P. M. et al. Phytotoxicity and cytogenotoxicity of *dionaea muscipula* Ellis extracts and its major compound against *lactuca sativa* and *allium cepa* //Biologia. – 2022. – Т. 77. – №. 10. – С. 2975-2988.
164. Khaliq T. et al. Critical review on *Rumex dentatus* L. a strong pharmacophore and the future medicine: Pharmacology, phytochemical analysis and traditional uses //Heliyon. – 2023. – Т. 9. – №. 3.
165. Asare G. A. et al. Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels //Journal of ethnopharmacology. – 2012. – Т. 139. – №. 1. – С. 265-272.
166. Стефанов А.В. и др. Доклинические исследования лекарственных средств // Киев. Издательский дом «Авиценна» – 2002 – с.568 (Методические рекомендации).

167. Asare G. A. et al. Toxicity potentials of the nutraceutical *Moringa oleifera* at supra-supplementation levels // *Journal of ethnopharmacology*. – 2012. – Т. 139. – №. 1. – С. 265-272.
168. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта // Л. – 1963 (Учебник).
169. Миронов А. Н. О «Руководстве по проведению клинических исследований лекарственных средств» // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. – 2012. – №. 2. – С. 4-5.
170. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / Миронов А.Н. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
171. Емельянова Н. Б., Абрамов В. Е., Глазьев Е. Н., Балышев А. В. Острая пероральная и подострая токсичность препарата Трисульфон Суспензия // *Международный вестник ветеринарии*. 2013. № 2. С. 34–37.
172. Clarke D.W. et al. The disposition and the liver and thymus gland toxicity of 3, 3', 4, 4'-tetrachlorobiphenyl in the female rat // *Canadian journal of physiology and pharmacology*. – 1984. – Т. 62. – №. 10. – С. 1253-1260.
173. Dekant W., Vamvakas S. Biotransformation and membrane transport in nephrotoxicity // *Critical reviews in toxicology*. – 1996. – Т. 26. – №. 3. – С. 309-334.
174. Shokan A. K. et al. Effects of *Rumex tianschanicus* Losinsk extract on hematological indicators in experimental gastritis // *Bulletin of the Karaganda university Biology. Medicine. Geography series*. – 2021. – Т. 103. – №. 3. – С. 150-156.
175. Shokan A. K. et al. Effect of the complex extract from *Rumex* plants on quantitative parameters of blood cells and bone marrow in vivo // *International Journal of Biology and Chemistry*. – 2024. – Т. 17. – №. 1. – С. 31-39.
176. Araújo M. C. P. M. et al. Acute and sub chronic toxicity study of aqueous extract from the leaves and branches of *Campomanesia velutina* (Cambess) O. Berg // *Journal of ethnopharmacology*. – 2017. – Т. 201. – С. 17-25.
177. Lee H. et al. Evaluation of the effects of *Cuminum cyminum* on cellular viability, osteogenic differentiation and mineralization of human bone marrow-derived stem cells // *Medicina*. – 2021. – Т. 57. – №. 1. – С. 38.
178. Seitimova G. A. Shokan A. K., Tolstikova T. G., Zhukova N. A., Korulkin D. Y., Kudrina N. O. Litvinenko Y.A. Meduntseva N.D. Terletskaia N.V. Kulmanov T.E. Antiulcer Activity of Anthraquinone–Flavonoid Complex of *Rumex tianschanicus* Losinsk // *Molecules*. – 2023. – Т. 28. – №. 5. – С. 2347.
179. Oteiza P. I. et al. Flavonoids and the gastrointestinal tract: Local and systemic effects // *Molecular aspects of medicine*. – 2018. – Т. 61. – С. 41-49.
180. Guerrero C. P., Martin M. J., Marhuenda E. Prevention by rutin of gastric lesions induced by ethanol in rats: role of endogenous prostaglandins // *General Pharmacology: The Vascular System*. – 1994. – Т. 25. – №. 3. – С. 575-580.53.
181. Izzo A. A. Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Capasso, F. Antiulcer effect of flavonoids. Role of endogenous PAF // *Phytotherapy Research*. – 1994. – Т. 8. – №. 3. – С. 179-181.

182. Satyanarayana P. S., Singh D., Chopra K. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cyclosporine in rats //Methods and findings in experimental and clinical pharmacology. – 2001. – T. 23. – №. 4. – C. 175-181.
183. Barnaulov O. D. et al. Effect of flavonoids from the aerial parts of *Astragalus quisqualis* Bunge and *A. floccosifolius* on experimental gastric destruction in mice. – 1985.
184. Rao C. V. et al. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related gastric mucosal damage in rats //Natural Product Sciences. – 2003. – T. 9. – №. 2. – C. 68-72.
185. de la Lastra A., Martin M. J., Motilva V. Antiulcer and gastroprotective effects of quercetin: a gross and histologic study //Pharmacology. – 1994. – T. 48. – №. 1. – C. 56-62.
186. Beil W., Birkholz C., Sewing K. F. Effects of flavonoids on parietal cell acid secretion, gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth //Arzneimittel-forschung. – 1995. – T. 45. – №. 6. – C. 697-700.
187. Martin M. J. et al. Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin //Zeitschrift für Naturforschung C. – 1998. – T. 53. – №. 1-2. – C. 82-88.
188. Kahraman A. Erkasap, N.; Koken, T.; Serteser, M.; Aktepe, F.; Erkasap, S. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions //Toxicology. – 2003. – T. 183. – №. 1-3. – C. 133-142.
189. Motilva V. Alarcon De La Lastra, C.; Calero M.J.M. Effects of naringenin and quercetin on experimental chronic gastric ulcer in rat. Studies on the histological findings //Phytotherapy Research. – 1992. – T. 6. – №. 3. – C. 168-170.
190. Isnain F.S. Liao N.C. Tsai H.Y.; Hsu J.L. Tsai P.J. Wardani A.K. Chen Y.K. Protective Effect of Ethanolic Extract of *Djulius Hull* on Indomethacin-Induced Gastric Injury //Applied Sciences–2023.–T. 13. №. 1.–C. 594.
191. Elsanhoty R.M. Soliman, M. S., Khidr Y.A., Hassan G.O., Hassan A.R., Aladhadh M., Abdella A. Pharmacological Activities and Characterization of Phenolic and Flavonoid Compounds in *Solenostemma argel* Extract //Molecules. – 2022. – T. 27. – №. 23. – C. 8118.
192. Derelanko M. J., Long J. F. Effect of corticosteroids on indomethacin-induced intestinal ulceration in the rat //Digestive Diseases and Sciences. – 1980. – T. 25. – C. 823-829.
193. Qazi N.G. Khan A.U., Abbasi S.W., Shah F.A., Rasheed F. Ali F. Bungau S. Pharmacological basis of *Rumex hastatus* D. Don in gastrointestinal diseases with focusing effects on H⁺/K⁺-ATPase, calcium channels inhibition and PDE mediated signaling: Toxicological evaluation on vital organs //Molecules. – 2022. – T. 27. – №. 18. – C. 5919.
194. Ajaib M. et al. Analysis of antidiabetic, antiulcer and analgesic potential of traditional ethnomedicinal plant *Emex spinosa* (L.) Campd. from Azad Jammu and Kashmir //Plos one. – 2022. – T. 17. – №. 10. – C. e0274706.
195. Aleid I. S. et al. Gastroprotective effects of spirulina platensis, golden kiwifruit flesh, and golden kiwifruit peel extracts individually or in combination

against indomethacin-induced gastric ulcer in rats //Nutrients. – 2021. – Т. 13. – №. 10. – С. 3499.

196. Süleyman H. et al. Effects of *Rumex patientia* root extract on indomethacine and ethanol induced gastric damage in rats //Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences. –2004. –Т. 59. –№. 2.–С. 147-149.

197. Серов В. В., Пауков В. С. Воспаление: руководство для врачей/под ред. ВВ Серова, ВС Паукова //М.: Медицина. – 1995. – С. 645.

198. Коган Е. Г. и др. Изучение антиэкссудативной и антипролиферативной активности извлечений из копеечника кустарникового травы //Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2017. – Т. 16. – №. 2. – С. 163-169.

199. Гладченко М. П. и др. Противовоспалительная активность настоя и водорастворимых полисахаридов травы короставника полевого (*knautia arvensis* (L.) coult.) //хабаршысы. – С. 3.

200. Данилова К. И., Павлов С. А. Многообразие медиаторов воспаления и их действие в острой фазе воспалительного процесса //«аграрная наука в инновационном развитии агропромышленного комплекса Иркутской области»/Сборник научных тезисов очно-заочной научно-практической конференции посвященной Дню Российской науки.-Молодежный: Изд-во Иркутский ГАУ, ТОМ 2, 2023-219 с. – 2023. – С. 31.

201. Давыдов А. Т. и др. Фантомная боль, роль и место различных методов лечения фантомно-болевого синдрома //Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т. 12. – №. 1. – С. 35-58.

202. Süleyman H. et al. Antiinflammatory effect of the aqueous extract from *Rumex patientia* L. roots //Journal of ethnopharmacology. – 1999. – Т. 65. – №. 2. – С. 141-148.

203. Wu Y. et al. Emodin-mediated protection from acute myocardial infarction via inhibition of inflammation and apoptosis in local ischemic myocardium //Life sciences. – 2007. – Т. 81. – №. 17-18. – С. 1332-1338.

204. Litvinenko Y. A., MuzychKina R. A. Phytochemical investigation of biologically active substances in certain Kazakhstan *Rumex* species. 1 //Chemistry of natural compounds. – 2003. – Т. 39. – С. 446-449.

205. Предпатент №15794 РК, МПК7 А 61К 35/78, С07Д311/32. Способ получения полифенольного комплекса, обладающего антиоксидантной активностью. / Р.А. Музычкина, Ю.А. Литвиненко, Игбал Чаудри, Талат Махмур. - Оpubл. 15.06.2005; Бюл. № 6.

206. Blois M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical //Nature. – 1958. – Т. 181. – №. 4617. – С. 1199-1200.

207. Vasas A., Orbán-Gyapai O., Hohmann J. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology //Journal of ethnopharmacology. – 2015. – Т. 175. – С. 198-228.

208. Decker E. A., Welch B. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food //Journal of Agricultural and food Chemistry. – 1990. – Т. 38. – №. 3. – С. 674-677.

209. Yıldırım A., Mavi A., Kara A. A. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts //Journal of agricultural and food chemistry. – 2001. – Т. 49. – №. 8. – С. 4083-4089.
210. Lin Y. T. et al. Antioxidant and Anti- α -glucosidase activities of various solvent extracts and major bioactive components from the fruits of *Crataegus pinnatifida* //Antioxidants. – 2022. – Т. 11. – №. 2. – С. 320.
211. Abaza L. et al. Chétoui olive leaf extracts: influence of the solvent type on phenolics and antioxidant activities //Grasas y aceites. – 2011. – Т. 62. – №. 1. – С. 96-104.
212. Apak R. et al. Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method //Journal of agricultural and food chemistry. – 2004. – Т. 52. – №. 26. – С. 7970-7981.
213. Тринеева О. В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор) //Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – №. 4. – С. 180-197.
214. Hertog M. G. L., Hollman P. C. H., Venema D. P. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits //Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 1992. – Т. 40. – №. 9. – С. 1591-1598.
215. Высочина Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишные (Polygonaceae Juss.). Сообщ. V. род Ревень-Rheum L //Turczaninowia. – 2012. – Т. 15. – №. 1. – С. 92-97.

Приложение А

КАЗАКСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ
ЭКОЛОГИЯ, ГЕОЛОГИЯ ЖӘНЕ ТАБИҒИ
РЕСУРСТАР МИНИСТРЛІГІ
Қазақстан Республикасының Экология,
геология және табиғи ресурстар министрлігі
Орман шаруашылығы және жануарлар
дүниесі комитетінің "Ботаника және
фитоинтродукция институты" шаруашылық
жүргізу құқығындағы республикалық
мемлекеттік кәсіпорны



МИНИСТЕРСТВО ЭКОЛОГИИ,
ГЕОЛОГИИ И ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
Республиканское государственное
предприятие на праве хозяйственного
ведения "Институт ботаники и
фитоинтродукции" Комитета лесного
хозяйства и животного мира Министерства
экологии, геологии и природных ресурсов
Республики Казахстан

050040, Алматы қ., Тимирязев к., 36 «Д»,
тел. 8(727) 394-80-40, факс 8(727) 394-80-40

050040, г. Алматы, ул. Тимирязева 36 «Д»,
тел. 8(727) 394-80-40, факс 8(727) 394-80-40

№ 01-05/181

« 17 » сентя 2021 г.

Заведующей кафедрой
биоразнообразия и биоресурсов
д.б.н., профессору
Курманбаевой М.С.

Уважаемая Меруерт Сакеновна !

Гербарный материал, представленный Phd докторантом 1 курса
обучения по специальности «8D05101 – Биология» Шокан А.К. по
диссертационной теме исследования «Изучение биологических механизмов
влияния вторичных метаболитов *Rumex tianschensica* Losinsk.»,
идентифицирован как вид *Rumex tianschensica* Losinsk.

Генеральный директор,
д.б.н., академик КазНАЕН



Ситпаева Г.Т.

Исполнитель: внс лаборатории флоры
высших растений, к.б.н.
Данилов М.П.

Приложение Б

Корреляционный анализ по Пирсону между гематологическими показателями
лабораторных крыс

	Лейкоциты	Эритроциты	Гемоглобины	тромбоциты	абс нейтрофилы	абс лимфоциты	абс моноциты	абс эозинофилы	абс базофилы	нейтрофилы	лимфоциты	отн моноциты	отн эозинофилы	отн базофилы
лейкоциты	1.0000	0.9350	0.0961	-0.6535	-0.5406	0.7768	0.7666	0.7891	-0.2308	-0.7912	0.7422	-0.0172	-0.6136	0.4059
эритроциты	0.9350	1.0000	0.2588	-0.5312	-0.5586	0.7050	0.7689	0.5925	-0.2279	-0.6214	0.6426	0.0898	-0.6854	0.2588
гемоглобины	0.0961	0.2588	1.0000	-0.5399	-0.6182	0.5469	0.0602	0.0673	-0.2862	-0.3274	0.4460	-0.1364	-0.7417	-0.4308
тромбоциты	-0.6535	-0.5312	-0.5399	1.0000	0.5615	-0.9648	-0.3123	-0.8616	0.1372	0.9579	-0.9674	0.0457	0.7004	-0.2999
абс нейтрофилы	-0.5406	-0.5586	-0.6182	0.5615	1.0000	-0.5827	-0.7265	-0.2936	0.4386	0.5772	-0.4994	0.6304	0.6660	0.4892
абс лимфоциты	0.7768	0.7050	0.5469	-0.9648	-0.5827	1.0000	0.3927	0.8460	-0.2589	-0.9352	0.9528	-0.0010	-0.8236	0.3290
абс моноциты	0.7666	0.7689	0.0602	-0.3123	-0.7265	0.3927	1.0000	0.4020	-0.0808	-0.4913	0.4139	-0.3021	-0.3133	-0.1044
абс эозинофилы	0.7891	0.5925	0.0673	-0.8616	-0.2936	0.8460	0.4020	1.0000	0.0731	-0.9397	0.9181	0.1530	-0.4218	0.6613
абс базофилы	-0.2308	-0.2279	-0.2862	0.1372	0.4386	-0.2589	-0.0808	0.0731	1.0000	0.1218	0.0320	0.6418	0.6415	0.3293
отн нейтрофилы	-0.7912	-0.6214	-0.3274	0.9579	0.5772	-0.9352	-0.4913	-0.9397	0.1218	1.0000	-0.9574	0.1041	0.6116	-0.3771
лимфоциты	0.7422	0.6426	0.4460	-0.9674	-0.4994	0.9528	0.4139	0.9181	0.0320	-0.9574	1.0000	0.1291	-0.6303	0.4251
отн моноциты	-0.0172	0.0898	-0.1364	0.0457	0.6304	-0.0010	-0.3021	0.1530	0.6418	0.1041	0.1291	1.0000	0.1846	0.6702
эозинофилы	-0.6136	-0.6854	-0.7417	0.7004	0.6660	-0.8236	-0.3133	-0.4218	0.6415	0.6116	-0.6303	0.1846	1.0000	0.0525
отн базофилы	0.4059	0.2588	-0.4308	-0.2999	0.4892	0.3290	-0.1044	0.6613	0.3293	-0.3771	0.4251	0.6702	0.0525	1.0000

Приложение В

Корреляционный анализ по Пирсону между биохимическими показателями
печеночной и почечной функций у экспериментальных групп животных

	Общий билирубин	АлТ	АсТ	ЩФ	Мочевина	Мочевая кислота	Креатинин	Триглицериды	Общий холестерин	Холестерин ЛПВП	Холестерин ЛПНП	Коэффициент атерогенности
Общий билирубин	1.0000	0.8734	0.7384	-0.6299	0.7977	-0.5742	0.4595	0.8057	0.4621	0.9257	0.9517	0.5919
АлТ	0.8734	1.0000	0.7954	-0.8227	0.9230	-0.7398	0.2562	0.7573	0.6158	0.9311	0.9231	0.5069
АсТ	0.7384	0.7954	1.0000	-0.4675	0.8960	-0.3406	0.7102	0.8495	0.6012	0.8431	0.8352	0.0310
ЩФ	-0.6299	-0.8227	-0.4675	1.0000	-0.8023	0.9526	0.2257	-0.6615	-0.5060	-0.7934	-0.6866	-0.7574
Мочевина	0.7977	0.9230	0.8960	-0.8023	1.0000	-0.6702	0.3528	0.9163	0.7100	0.9471	0.8721	0.3942
Мочевая кислота	-0.5742	-0.7398	-0.3406	0.9526	-0.6702	1.0000	0.2679	-0.5304	-0.2236	-0.7274	-0.6630	-0.8015
Креатинин	0.4595	0.2562	0.7102	0.2257	0.3528	0.2679	1.0000	0.4798	0.1095	0.4003	0.4984	-0.3594
Триглицериды	0.8057	0.7573	0.8495	-0.6615	0.9163	-0.5304	0.4798	1.0000	0.6235	0.9165	0.8220	0.4204
Общий холестерин	0.4621	0.6158	0.6012	-0.5060	0.7100	-0.2236	0.1095	0.6235	1.0000	0.5292	0.3986	0.1348
Холестерин ЛПВП	0.9257	0.9311	0.8431	-0.7934	0.9471	-0.7274	0.4003	0.9165	0.5292	1.0000	0.9686	0.5606
Холестерин ЛПНП	0.9517	0.9231	0.8352	-0.6866	0.8721	-0.6630	0.4984	0.8220	0.3986	0.9686	1.0000	0.4991
Коэффициент атерогенности	0.5919	0.5069	0.0310	-0.7574	0.3942	-0.8015	-0.3594	0.4204	0.1348	0.5606	0.4991	1.0000