

На правах рукописи

ФМ-

ФЕРУБКО ЕКАТЕРИНА ВЛАДИМИРОВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
САБЕЛЬНИКА БОЛОТНОГО ЭКСТРАКТА СУХОГО**

14.00.25 — фармакология, клиническая фармакология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Улан-Удэ - 2009



003470395

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) РАСХН

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук

Колхир Владимир Карлович

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук,
Профессор

Убашеев Иннокентий Оширович

Кандидат медицинских наук

Хоцаев Жамбо Цыбикович

Ведущая организация: ГОУ ВПО Бурятский государственный университет
Федерального агентства по образованию

Защита состоится «15» *июня* 2009 г. в 10 часов на заседании
Диссертационного совета ДМ 003.028.02. в Институте общей и
экспериментальной биологии СО РАН по адресу: 670047,
г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке
Бурятского научного центра СО РАН.

Автореферат разослан «14» *июня* 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Хобракова В.Б.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время хронические воспалительные заболевания опорно-двигательного аппарата (ОДА) являются одной из актуальных медико-социальных проблем здравоохранения. Это обусловлено широким распространением таких заболеваний (0,8 % среди всего населения России), инвалидизацией больных и высокими экономическими затратами, связанными как с лечением основного заболевания и реабилитацией пациентов, так и с лечением и профилактикой возможных осложнений (Эрдес, Фоломеева, 2004).

Ведущее место в медикаментозной терапии хронических воспалительных заболеваний ОДА занимают нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). Эти средства зарекомендовали себя как высокоэффективные, обладающие заметными противовоспалительными, жаропонижающими и анальгетическими свойствами. Однако их длительное применение связано с развитием побочных эффектов: гастропатий, гепатитов, нефропатий, аллергических реакций, повышения артериального давления и др. (Лоуренс, Беннетт, Браун и др., 2002; Шварц, 2002). Широкое использование НПВП ограничивается возрастом больных и наличием сопутствующих болезней – артериальной гипертензии и сахарного диабета (Henry, 2000).

В последние годы для лечения заболеваний ОДА стали широко применяться препараты растительного происхождения (Кукес, 1999). В отличие от синтетических фитопрепараты обладают, как правило, малой токсичностью и лучшей переносимостью, проявляя при этом заметную фармакологическую активность, что позволяет гораздо шире использовать фитопрепараты для симптоматического, профилактического и восстановительного лечения, а также противорецидивной терапии воспалительных заболеваний ОДА (Кукес, 1999).

В связи с этим разработка и внедрение новых эффективных и безопасных лекарственных препаратов из растительного сырья, предназначенных для профилактики и лечения такого рода заболеваний, является актуальной задачей современной фармакологии. Перспективным объектом для разработки такого препарата является сабельник болотный (*Comarum palustre* L.). В народной медицине сабельник болотный применяется для лечения ревматических заболеваний (Сокольская и др., 2008). Растение широко распространено в тундровой и лесной зонах Евразии, что обеспечивает его достаточную сырьевую базу.

Сотрудниками ВИЛАРа совместно с сотрудниками Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (г. Улан-Удэ) разработан оригинальный способ и технология получения сухого экстракта из корней и корневищ сабельника болотного (Жукова, 2007; Сокольская и др., 2008). В процессе предварительного изучения именно этот экстракт был выбран для дальнейшего изучения как наиболее перспективный с точки зрения разработки лекарственного средства.

Цель исследования. Целью нашей работы является изучение специфических свойств и фармакологической активности сабельника болотного экстракта сухого (СБЭС) для разработки на его основе

лекарственного препарата для лечения воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

- изучить специфическую фармакологическую активность сабельника болотного экстракта сухого с использованием экспериментальных моделей острого и хронического артритов, моделей анальгезии и гипертермии;
- изучить возможные механизмы противовоспалительного действия сабельника болотного экстракта сухого;
- изучить спектр фармакологического действия сабельника болотного экстракта сухого, включая исследование его влияния на функциональное состояние ЦНС, сердечно-сосудистой системы, мочевыделительной системы, системы органов пищеварения, а также на картину периферической крови и показатели системы гемостаза.

Научная новизна. Впервые проведено подробное экспериментальное исследование фармакологических свойств сабельника болотного экстракта сухого. Установлено, что СБЭС проявляет отчетливую противовоспалительную, анальгетическую, жаропонижающую, антиоксидантную и мембраностабилизирующую активности. Показано, что курсовое введение СБЭС в экспериментальной дозе 100 мг/кг оказывает выраженное фармакотерапевтическое влияние при экспериментальном остром и хроническом иммунном артрите, способствует снижению выраженности воспалительного процесса. Впервые доказано, что одним из ведущих механизмов противовоспалительного действия СБЭС является непосредственное ингибирующее воздействие на активность циклооксигеназы (ЦОГ) арахидоновой кислоты. Установлено также, что одним из молекулярно-клеточных механизмов действия СБЭС является его способность ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомолекул, вероятно за счет высокого содержания веществ фенольной природы. Показано, что механизм антиоксидантной активности исследуемого фитоэкстракта связан с его способностью повышать потенциал эндогенной системы защиты организма. При изучении спектра фармакологического действия было установлено, что СБЭС обладает антиоксидантными, противосудорожными, диуретическими и антиагрегационными свойствами.

Практическая значимость. Настоящая работа является фрагментом комплексных исследований, проводимых в отделе экспериментальной и клинической фармакологии (руководитель - д.м.н. В.К.Колхир) Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) Российской академии сельскохозяйственных наук (РАСХН) (директор - академик РАН и РАСХН В.А.Быков) по «Программе фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации на 2006-2010 гг.», задание 04.13. Разработка технологии производства высокоэффективных лечебных и профилактических препаратов из растительного сырья.

Полученные результаты показали целесообразность разработки лекарственного средства для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата на основе СБЭС.

Результаты диссертационной работы вошли в основную часть материалов доклинического фармакологического досье для предоставления в Росздравнадзор РФ с целью регистрации препарата из сабельника болотного экстракта сухого в качестве лекарственного средства для лечения воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Сабельника болотного экстракт сухой обладает выраженными противовоспалительными, анальгетическими, жаропонижающими, антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами.

2. Курсовое введение СБЭС крысам на фоне острого и хронического артритов характеризуется снижением выраженности воспалительного процесса, благоприятным влиянием на иммунную систему животных.

3. Основными механизмами противовоспалительного действия сабельника болотного экстракта сухого является непосредственное ингибирование активности цикломонооксигеназы арахидоновой кислоты, а также ингибирование процессов свободнорадикального окисления и активация эндогенной антиоксидантной системы организма.

4. СБЭС обладает антитоксическими, противосудорожными, диуретическими и антиагрегационными свойствами.

Апробация материалов диссертации. Основные результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на:

- XV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2008);

- региональной конференции «Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции» (Пятигорск, 2008);

- 7-ой региональной межвузовской конференции молодых ученых «Медицина завтрашнего дня» (Чита, 2008)

- Международной конференции «Traditional medicine: a current situation and perspectives of development» (Ulan-Ude, 2008);

- IX Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2008);

- расширенных заседаниях отдела экспериментальной и клинической фармакологии (Москва, 2009);

- заседании секции ученого совета ВИЛАР (Москва, 2009).

Публикации: по материалам диссертации опубликовано 8 научных работ, из них 3 статьи в периодических изданиях, рекомендованных ВАК МО и науки РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 137 листах компьютерного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 178 источников, из них 44 на иностранных языках. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 8 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследованию подвергался стандартизованный по сумме полифенольных соединений в перерасчете на (+)-катехин, сухой экстракт, полученный из корней и корневищ сабельника болотного (Патент РФ № 2318531 от 10.03.2008г).

Экспериментальная работа выполнена на белых крысах Wistar обоего пола массой 160 – 220 г, белых мышках линий СВА и F1(СВА[С57В1/6]) обоего пола массой 18 – 20 г, на кроликах-самцах 2,5-4,0 кг. Животные содержались в виварии института на стандартном рационе. Эксперименты на животных осуществляли в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1996).

Фармакологические свойства СБЭС изучали в опытах *in vivo* при его однократном и многократном внутрижелудочном введении животным в диапазоне доз 25-100 мг/кг. В отдельных экспериментах использовали препараты сравнения: канефрон («Bionogica», Германия) – известный растительный лекарственный препарат, обладающий противовоспалительной активностью, индометацин («Берлин-Хеми», Германия) – известный противовоспалительный препарат, метамизол натрия (анальгин) (ООО «Дальнехимфарм», Россия) – известное анальгетическое средство. Препараты сравнения вводили животным по схемам введения аналогичным для СБЭС.

В условиях опытов *in vitro* СБЭС изучали в концентрациях: 7 -30 нг/мл пробы при исследовании его влияния на активность ЦОГ; 60-300 мкг/мл при изучении его антиоксидантных свойств (препарат сравнения - ионол – стандартный эталонный антиоксидант); 0,25-1,0 мг/мл при исследовании мембраностабилизирующей активности; 0,1-10,0 мг/мл при изучении его антиагрегационных свойств, (препарат сравнения - аспирин «Упсарин Упса» («Бристол-Майерс Сквибб», Франция).

Исследования проводились в соответствии с рекомендациями «Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Хабриев, 2005).

Методики, используемые для определения специфической активности сабельника болотного экстракта сухого

Острую токсичность СБЭС определяли с использованием общепринятого метода Литчфилда-Уилкоксона (Руководство..., 2005). Класс токсичности определяли по классификации Сидорова (1973).

Для оценки **специфической активности** СБЭС определяли его влияние на экссудацию, альтерацию и образование фиброзно-грануляционной ткани в условиях соответствующих экспериментальных моделей. Антиэкссудативное влияние СБЭС определяли по угнетению формалинового (Стрельников, 1960), декстранового (Лещинский, 1976) и гистаминового (Александров и соавт., 1986)

отеков. Воспалительный процесс, с преобладанием явлений альтерации моделировали подкожным введением уксусной кислоты с одновременным внутривенным введением реополиглокина (Ойвин, Шетель, 1961). Оценку влияния СБЭС на образование фиброзно-грануляционной ткани осуществляли по методу Тринус и соавт.(1975).

С целью углубленного изучения и оценки специфической противовоспалительной активности СБЭС проведено изучение его влияния на течение экспериментальных артритов.

Острый артрит воспроизводили по методу Френка путем инъекции в коленный сустав правой задней конечности крысы 0,1 мл 2 % раствора формалина (Лазарев, 1954).

Хроническое иммунное воспаление (адьювантный артрит) моделировали путем субплантарного введения в правую заднюю конечность животного 0,1 мл адьюванта Фрейнда (взвесь вакцины БЦЖ в вазелиновом масле в концентрации 2,5 мг/мл) (Шварц, 2005). Противовоспалительную активность СБЭС оценивали по его способности уменьшать отек конечностей у подопытных животных по сравнению с контрольными. В периферической крови подсчитывали количество эритроцитов, общее число лейкоцитов и лейкоцитарную формулу, определяли скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и время свертываемости крови (Кост, 1975). Для оценки состояния системы иммунитета определяли количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) по Настаушевой в модификации Труновой (Трунова, 1996) с определением соотношения высокомолекулярных и низкомолекулярных ЦИК. Также определяли содержание иммуноглобулинов в крови (Mancini, 1970); количество антителообразующих клеток (АОК) в селезенке (Cunningham, 1965); фагоцитарную активность нейтрофилов (Меньшиков, и др., 1987). Для оценки интенсивности процессов свободнорадикального окисления и состояния антиоксидантной системы определяли концентрацию малонового диальдегида (МДА) (Темирбулатов и др., 1981) и восстановленного глутатиона в крови (Anderson, 1989), активность супероксиддисмутазы (Чевари и соавт., 1985) и каталазы в крови (Королюк и соавт., 1988). Для более объективной оценки противовоспалительного эффекта экстракта было проведено также патоморфологическое исследование тканей поврежденного сустава животных. С этой целью ткани поврежденного сустава животных фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина; депарафинированные гистологические срезы, полученные на санном микротоме, окрашивали гематоксилин-эозином (Киселева, 1982).

Специфическую анальгетическую активность СБЭС оценивали на модели «уксусно-кислых» корчей (Руководство ..., 2005), **жаропонижающие свойства СБЭС** определяли по его способности оказывать гипотермический эффект у крыс на фоне «дрожевой лихорадки» (Руководство ..., 2005).

Для выявления предполагаемого **механизма действия** было изучено влияние СБЭС на активность ЦОГ, а также на его мембраностабилизирующие и антиоксидантные свойства. Влияние СБЭС на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro* определяли полярографически по поглощению кислорода по методу Вейна (Vane, 1996). Антиоксидантную активность (АОА) определяли с

использованием модели деградации β -каротина (Lee et al., 1995). Оценку мембраностабилизирующей активности СБЭС осуществляли по степени гемолиза эритроцитов, который вызывали реактивом Фентона (перекисный гемолиз), а также добавлением воды дистиллированной (осмотический гемолиз) (Ковалев и соавт., 1986).

Методики, используемые для определения общих фармакологических свойств сабельника болотного экстракта сухого

В качестве дополнительных исследований для расширения характеристики фармакологического спектра СБЭС проводили изучение общих фармакологических свойств СБЭС.

С целью изучения влияния СБЭС на **функциональное состояние центральной нервной системы** исследовали его влияние на ориентировочно-исследовательскую реакцию и эмоциональность животных в тесте «открытое поле» (Буреш, 1991; Воронина, 2000). Кроме того, с целью оценки антитоксических свойств и возможного воздействия СБЭС на отдельные структуры ЦНС, изучали его влияние на спотворные и судорожные эффекты фармакологических анализаторов - гексенала, камфоры и стрихнина (Гацура, 1974; Воронина, 2000).

Влияние СБЭС на **функциональное состояние сердечно-сосудистой системы** оценивали по характеру его воздействия на величину систолического артериального давления с использованием кардиомонитора СМ-42115 (Польша) и биоэлектрическую активность миокарда животных. Электрокардиограмму записывали во втором стандартном отведении на электрокардиографе ЭК 1 К-01 (Россия).

Изучение влияния СБЭС на **функциональное состояние мочевыделительной системы** крыс проводили с использованием модели спонтанного диуреза без водной нагрузки с оценкой диуретической функции почек (Меньшиков и соавт., 1987).

Исследование влияния СБЭС на **функциональную активность органов пищеварения** включало изучение его влияния на функции печени, желудка и внешнесекреторную активность поджелудочной железы крыс. Для оценки функционального состояния печени в сыворотке крови животных с помощью унифицированных методов определяли содержание общего холестерина, активность аспартатаминотрансферазы (АсТ) и аланинаминотрансферазы (АлТ), активность альдолазы и щелочной фосфатазы, содержание общего белка и общего билирубина (Меньшиков и соавт., 1987). Оценку желчеобразовательной и желчевыделительной функции печени крыс проводили в условиях острого опыта по общепринятой методике (Скакун, Олейник, 1967). Оценивали влияния СБЭС на кислотообразующую и ферментопродуцирующую функции желудка животных с помощью унифицированных методов (Колб, Камышников, 1982). Функциональную активность поджелудочной железы оценивали по активности альфа-амилазы и липазы в плазме крови (Меньшиков и соавт., 1987).

Изучение влияния СБЭС на картину периферической крови крыс проводили согласно методическим рекомендациям (Методы исследования гемостаза, 1995). Аггегригационную активность СБЭС изучали на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов кроликов *in vitro* (Ворн, 1962) с использованием двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов 230 LA2 «BIOLA» (Россия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента (Сергиенко, Бондарева, 2000). В таблицах:

* - значения достоверны от контроля при $-p < 0,05$;

** - значения достоверны от контроля при $-p < 0,01$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение LD₅₀ сабельника болотного экстракта сухого

До начала изучения специфической активности и фармакологических свойств СБЭС предварительно изучали его безопасность. При определении острой токсичности СБЭС установлено, что при внутрибрюшинном введении крысам СБЭС LD₅₀ составляет 370,5 мг/кг (391,8±349,2), а при введении мышам - 358 мг/кг (375,4±340,6). При внутривенном введении СБЭС в максимально возможном объеме 6000 мг/кг крысам и 5500 мг/кг мышам гибели животных не наблюдали. Полученные данные позволяют отнести СБЭС к классу малотоксичных веществ.

Исследование специфической фармакологической активности сабельника болотного экстракта сухого

Для определения специфической фармакологической активности СБЭС проводили изучение влияния его на основные стадии воспалительного процесса (альтерацию, экссудацию и пролиферацию). Для изучения антиэкссудативной активности СБЭС были использованы модели формалинового, декстранового и гистаминового отеков у крыс.

В результате экспериментов было установлено, что однократное введение крысам СБЭС в дозе 25 мг/кг на фоне формалинового отека не оказывает влияния на воспалительную реакцию. На фоне введения СБЭС в дозах 50 и 100 мг/кг выраженность отека конечности уменьшалась соответственно на 26 и 36 % по сравнению с данными контрольной группы крыс. При дальнейшем увеличении дозы СБЭС нарастания противовоспалительного эффекта не отмечали (табл.1). Учитывая, что антиэкссудативная активность СБЭС в дозах 100 и 150 мг/кг была примерно одинаковой, то в дальнейших опытах в качестве экспериментальной дозы для СБЭС нами была выбрана доза 100 мг/кг (наибольший эффект). В экспериментальной дозе 100 мг/кг СБЭС оказывал выраженное антиэкссудативное действие на фоне формалинового отека. Препарат сравнения канефрон в дозе 100 мг/кг также проявлял антиэкссудативную активность, однако по выраженности эффекта он существенно (в 3,3 раза) уступал активности СБЭС в аналогичной дозе...

Таблица.1.

Влияние СБЭС на экссудативную фазу воспаления при формалиновом отеке у крыс ($M \pm m$; $n=10$)

Группы животных	Доза мг/кг	Разница масс лапок, мг	% угнетения отека
Контрольная (формалин+H ₂ O)		129,4 ± 9,34	-
1 опытная (формалин + СБЭС)	25	130,6 ± 10,43	-
2 опытная (формалин + СБЭС)	50	95,0 ± 6,34*	26,6
3 опытная (формалин + СБЭС)	100	82,0 ± 7,62*	36,7
4 опытная (формалин + СБЭС)	150	84,3 ± 6,55*	35,1
5 опытная (формалин + канефрон)	100	115 ± 5,89	11,2

Антиэкссудативное действие СБЭС изучали при его внутрижелудочном введении в дозе 100 мг/кг на моделях декстранового и гистаминового отеков. В результате проведенных экспериментов установлено, что СБЭС, уменьшает степень отека конечности при асептическом воспалении, вызванном введением декстрана и гистамина соответственно на 44 и 62 % по сравнению с аналогичными показателями животных контрольных групп (табл. 2). Препарат сравнения оказывал менее выраженное антиэкссудативное действие.

Таблица 2.

Влияние СЭСБ на процессы экссудации при декстрановом и гистаминовом отеках у крыс ($M \pm m$; $n=10$)

Группы животных	Декстрановый отек		Гистаминовый отек	
	Разность объема лапок мл	% угнетения отека	Разность объема лапок мл	% угнетения отека
Контрольная	0,622 ± 0,064	-	0,390 ± 0,09	-
СБЭС 100 мг/кг	0,346 ± 0,034*	44,0	0,150 ± 0,05*	61,5
Канефрон 100мг/кг	0,473 ± 0,035*	34,0	0,105 ± 0,05*	73,0

Таким образом показано, что в условиях 3-х экспериментальных моделей острого воспаления (формалинового, декстранового и гистаминового отеков) СБЭС проявляет выраженную антиэкссудативную (противовоспалительную) активность.

В условиях модели острого асептического воспаления многократное внутрижелудочное введение СБЭС в дозе 100 мг/кг сопровождалось уменьшением выраженности альтерации тканей и ускорением регенерации. Об этом свидетельствовало уменьшение площади кожно-мышечного дефекта на 2, 9 и 25 сутки эксперимента соответственно на 45, 40 и 35 % по сравнению с аналогичными показателями у крыс контрольной группы. Противовоспалительная активность СБЭС во все сроки наблюдения превосходила таковую у препарата сравнения (табл. 3).

Таблица 3.

Влияние СБЭС на процессы альтерации и регенерации при остром асептическом воспалении у белых крыс ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	Площадь альтерации, $см^2$		
	2 сутки	9 сутки	25 сутки
Контрольная	$2,31 \pm 0,21$	$3,92 \pm 0,34$	$0,74 \pm 0,11$
СБЭС 100 мг/кг	$1,28 \pm 0,15^*$	$2,24 \pm 0,28^*$	$0,48 \pm 0,09^*$
канефрон 100 мг/кг	$1,51 \pm 0,19^*$	$2,73 \pm 0,32^*$	$0,54 \pm 0,07^*$

Влияние сабельника болотного экстракта сухого на течение острого артрита у крыс

С целью оценки лечебной эффективности СБЭС проведено изучение его влияния на течение острого экспериментального артрита у крыс.

Введение экстракта на фоне острого формалинового артрита предупреждало развитие воспалительного отека пораженного сустава (табл.4).

Таблица 4.

Влияние СБЭС на диаметр воспаленного сустава при остром артрите у белых крыс ($M \pm m$; $n=10$)

Группы животных	Увеличение диаметра коленного сустава, % от контроля		
	7 сутки	14 сутки	21 сутки
Интактная	100	100	100
Контрольная (формалин + H_2O)	$133,7 \pm 5,41$	$136,4 \pm 4,36$	$115,5 \pm 2,24$
1 опытная (формалин + СБЭС)	$118,3 \pm 2,53^*$	$112,5 \pm 3,17^*$	$105,6 \pm 2,44^*$
2 опытная (формалин + индометацин)	$111,3 \pm 4,47^*$	$115,5 \pm 5,21^*$	$101,8 \pm 3,43^*$

Так, на 7 и 14 сутки после введения флогогенного агента у крыс 1 опытной группы диаметр коленного сустава был соответственно на 12 и 18 % меньше, чем в контроле ($p < 0.05$), а на 21 сутки исследования у животных этой группы наблюдали полное исчезновение признаков отека пораженного сустава. Противовоспалительное действие СБЭС было с активностью препарата сравнения - индометацина.

Курсовое введение животным СБЭС уменьшало выраженность признаков воспалительной реакции. Так, у крыс 1 опытной группы через 7 суток после введения флогогенного агента СОЭ снижалась на 41 %, а через 14 и 21 сутки – на 40 % по сравнению с показателями в контроле. Наряду с этим, количество лейкоцитов в периферической крови крыс, получавших СБЭС, уменьшалось соответственно срокам наблюдения на 14, 15 и 35 % по сравнению с показателями у крыс контрольной группы, в основном за счет

палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов. При введении СБЭС в периферической крови животных достоверно увеличивалось количество лимфоцитов: через 7 суток – на 31 %, 14 суток – на 18 % по сравнению с контролем.

При патоморфологическом исследовании тканей поврежденного сустава установлено, что у крыс на фоне введения СБЭС на 7 сутки наблюдения отек соединительной ткани суставной сумки был менее выражен, мышечные волокна, окружающие синовиальные оболочки сохраняли поперечно-полосатую исчерченность. На 14 сутки эксперимента выраженных отечных явлений в стенках суставной сумки не наблюдалось, сухожильные связки представлялись в виде параллельно лежащих пучков. На 21 сутки наблюдения у крыс, на фоне введения исследуемого экстракта, структура поверхностей суставов, покрытых хрящем, а также суставной сумки, практически не отличалась аналогичных показателей интактных животных.

Таким образом показано, что курсовое введение СБЭС в дозе 100 мг/кг на фоне острого артрита оказывает противовоспалительное действие, заметно уменьшая выраженность воспалительной реакции.

Изучение влияния сабельника болотного экстракта сухого на течение экспериментального хронического артрита у крыс

Для оценки терапевтической эффективности СБЭС было проведено изучение его влияния на течение хронического иммунного артрита у крыс.

При введении СБЭС в дозе 100 мг/кг на фоне адьювантного артрита было установлено, что в группе крыс, получавших исследуемый экстракт, к концу эксперимента выжило 90 % животных, при 50 % гибели в контроле (табл. 5). На фоне введения индометацина выжило 70 % животных. Установлено также, что СБЭС способствовал уменьшению отека правой задней конечности на 20, 26, 30 и 28 % по сравнению с данными в контрольной группе соответственно срокам наблюдения. При оценке выраженности отека левой (контрлатеральной) задней конечности на 14 сутки установлено, что у крыс 1 опытной группы объем левой конечности был на 36 % меньше, чем у крыс контрольной группы. При этом у 3-х животных 1 опытной группы отек левой конечности не развился вообще, что указывает на то, что экстракт сабельника ограничивает развитие вторичной иммунологической реакции. По данному показателю эффективность СБЭС несколько превосходила таковую у препарата сравнения индометацина.

Таблица 5

Влияние СБЭС на выживаемость крыс и развитие первичной и вторичной иммунологической реакции при хроническом артрите ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Сутки опыта	Группы животных		
		Контрольная (адьювант + вода)	1 опытная (адьювант + СБЭС)	2 опытная (адьювант + индометацин)
Выживаемость к окончанию курса, %	14	50	90	70
Увеличение объема правой конечности, %	3	32,4±2,21	26,6±1,78	25,4±1,59*
	6	41,4±3,19	30,6±2,76*	24,5±2,21*
	10	37,5±2,37	26,2±2,06*	21,8±1,67*
	14	29,7±1,89	21,3±1,56*	18,1±1,47*
Увеличение объема левой конечности, %	14	25,6±1,17	16,3±1,04*	19,5±1,41*

Данные, приведенные в таблице 6, свидетельствуют о том, что под влиянием СБЭС у животных 1 опытной группы на пике патологического процесса (14 сутки эксперимента) СОЭ снизилось практически до уровня физиологической нормы. В этой же группе отмечено достоверное увеличение числа лейкоцитов по сравнению с показателями у крыс контрольной группы, что следует рассматривать как повышение неспецифической защитной реакции организма на данном этапе развития хронической воспалительной реакции. Установлено также, что курсовое введение СБЭС в дозе 100 мг/кг сопровождается менее выраженными нарушениями в системе гемостаза, о чем свидетельствует снижение содержания фибриногена на 38 % и увеличение времени свертывания крови на 33 % по сравнению с аналогичными показателями у крыс контрольной группы. При этом активность СБЭС была сопоставима с активностью препарата сравнения.

Таблица 6

Влияние СБЭС на показатели периферической крови и системы гемостаза у крыс на 14 сутки хронического артрита ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы животных			
	Интактная	Контроль (адьювант + H ₂ O)	1 опытная (адьювант + СБЭС)	2 опытная (адьювант + индометацин)
СОЭ, мм/час	1,0±0,001	3,3±0,24	1,3±0,19*	2,3±0,19*
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	6,1±0,31	14,3±0,26	10,7±0,88*	6,4±0,70
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,2±0,34	6,8±0,54	7,1±0,56	6,9±0,51
Фибриноген, г/л	3,08±0,56	6,88±0,53	4,25±0,10*	4,68±0,78*
Время свертывания крови, с	82,0±4,20	56,3±4,19	75,0±4,54*	90,0±10,48*

Изучали влияние СБЭС на показатели иммунной системы крыс на фоне хронического адьювантного артрита. При исследовании влияния изучаемого экстракта на процессы антителообразования при адьювантном артрите установлено, что СБЭС снижает абсолютное число АОК на селезенку на 30 %, число АОК на 10^6 спленоцитов – на 35 % по отношению к контролю. Под влиянием фитозектракта у животных опытной группы наблюдали снижение содержания IgM, IgG и IgA соответственно на 38, 27 и 20 % и уменьшение количества циркулирующих иммунных комплексов в крови – в два раза по сравнению с аналогичными показателями у крыс контрольной группы. Установлено также, что СБЭС способствует повышению фагоцитарной активности нейтрофилов в среднем на 27 % по сравнению с показателями в контроле. Активность СБЭС была сопоставима с активностью препарата сравнения (табл. 7).

Таблица 7

Влияние СБЭС на показатели иммунной системы крыс на 14 сутки хронического адьювантного артрита ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы животных				
	Интактная	Контрольная (адьювант+ H ₂ O)	1 опытная (адьювант + СБЭС)	2 опытная (адьювант +индометацин)	
Абсолютное число АОК на селезенку	78009 ± 4367	111441 ± 5328	82549 ± 4647*	803116 ± 2355*	
Число АОК на 10^6 спленоцитов	447 ± 23	689 ± 21	530 ± 26*	507 ± 34*	
Иммуноглобулины, мг/%	IgM	37,6 ± 2,23	289,0 ± 23,6	179,6 ± 14,32*	134,5 ± 15,81*
	IgG	296,4 ± 14,87	371,0 ± 14,79	307,6 ± 17,92*	310,0 ± 15,76*
	IgA	51,5 ± 3,67	86,6 ± 5,72	69,1 ± 4,56*	79,7 ± 7,83
ЦИК, ед. ОП	9,3 ± 0,16	35,9 ± 2,05	18,4 ± 1,14*	13,3 ± 0,09*	
Фагоцитарный показатель, %	32,5 ± 1,26	42,4 ± 2,18	53,9 ± 1,32*	29,0 ± 1,13*	

Таким образом установлено, что СБЭС оказывает иммуномодулирующее действие на течение адьювантного артрита.

При изучении влияния СБЭС на показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы (табл. 8) было установлено, что изучаемый экстракт снижает концентрацию МДА в крови животных опытной группы на 40 %, увеличивает содержание восстановленного глутатиона на 80 % по сравнению с аналогичными показателями крыс контрольной группы. Наряду с этим, исследуемый экстракт способствует повышению активности супероксиддисмутазы и каталазы практически до уровня физиологической нормы. Курсовое введение СБЭС в дозе 100 мг/кг оказывало выраженное антиоксидантное действие, в то время как препарат сравнения не оказывал влияния на изучаемые показатели.

Таблица 8.

Влияние СБЭС на показатели свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы крыс на 14 сутки адьювантного артрита ($M \pm m$; $n=10$)

Показатели	Группы животных			
	Интактная	Контрольная (адьювант +H ₂ O)	1 опытная (адьювант + СБЭС)	2 опытная (адьювант + индометацин)
МДА, мкмоль/мл	2,15±0,140	4,72±0,537	2,90±0,271*	4,83±0,359
Восстановлен- ный глутатион, ммоль/л	27,7±1,76	16,6±2,38	30,45±3,97*	11,53±1,12
СОД, мкмоль/мл	21,1±1,00	4,7±0,52	15,0±0,82*	5,3±0,54
Каталаза, мкат/л	37,8±2,26	21,9±4,65	35,6±4,96*	24,3±2,04

Таким образом, показано курсовое введение СБЭС в дозе 100 мг/кг оказывает выраженное положительное влияние на течение иммунного артрита, проявляющееся заметным снижением выраженности воспалительного процесса; иммуномодулирующим действием, нормализующим показатели гуморального и клеточного звеньев иммунного ответа организма; ингибированием процессов свободнорадикального окисления, повышением активности ферментов эндогенной антиоксидантной системы защиты организма.

При разработке противовоспалительного препарата безусловно позитивным моментом является наличие у него анальгетических и жаропонижающих свойств. При изучении анальгетической активности СБЭС было показано, что его однократное введение крысам в дозе 100 мг/кг сопровождается увеличением продолжительности латентного периода болевой реакции и уменьшением количества корчей соответственно на 72 и 32 % по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы (табл. 9).

Таблица 9.

Влияние СБЭС на количество «уксусных корчей» и длительность латентного периода у крыс ($M \pm m$, $n=10$).

Группы животных	Доза мг/кг	Продолжительность латентного периода мин.	Количество корчей
Контрольная		4,50±0,51	24,5±1,75
1 опытная СБЭС	100	7,75±0,81*	16,7±1,34*
2 опытная анальгин	50	13,21±1,07*	12,4±1,78*

При изучении жаропонижающей активности СБЭС установлено, что изучаемый экстракт способствует снижению ректальной температуры крыс до уровня физиологической нормы (табл. 10).

Таблица 10.
Влияние СБЭС на ректальную температуру крыс при «дрожжевой лихорадке»
($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	Доза мг/кг	Исходная t° С	Лихорадка t° С	t° С через 2 часа	Снижение t° С
Контрольная	-	38,0 \pm 0,28	39,2 \pm 0,26	39,1 \pm 0,32	0,1
1 опытная СБЭС	100	37,9 \pm 0,34	39,1 \pm 0,31	38,0 \pm 0,17*	1,1
2 опытная анальгин	50	38,0 \pm 0,24	39,2 \pm 0,34	38,2 \pm 0,30	1,0

Таким образом показано, что СБЭС проявлял заметные анальгетическую и жаропонижающую активность сопоставимые с активностью препарата сравнения - анальгина.

Известно, что нестероидные противовоспалительные вещества обладают свойством ингибировать циклооксигеназу (ЦОГ) арахидоновой кислоты *in vitro*, при непосредственном контакте такого рода веществ с ферментом ЦОГ арахидоновой кислоты [Vane, 1976, 1995, Xie W., 1992]. Мы сочли целесообразным провести изучение влияния СБЭС на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro* с точки зрения выяснения возможных механизмов противовоспалительного действия изучаемого экстракта. Как показали эксперименты СБЭС оказывает непосредственное ингибирующее влияние на активность ЦОГ арахидоновой кислоты, угнетая скорость циклооксигеназной реакции на 82-91% в зависимости от концентрации экстракта в пробе (табл. 11)

Таблица 11.
Влияние сабельника болотного экстракта сухого на скорость циклооксигеназной реакции *in vitro*.

вариант опыта	Скорость реакции, $M \pm m$ нмоль/мин на мг белка.	Соотношение скоростей реакции опыт/контроль, в %
Контроль	3,2 \pm 0,1	100%
СБЭС 7 нг/мл пробы	0,60 \pm 0,02**	17,9
СБЭС 30 нг/мл пробы	0,30 \pm 0,01**	9,2

Результаты, полученные в условиях *in vitro*, подтвердили данные исследования противовоспалительной активности СБЭС на животных и свидетельствуют в пользу того, что одним из механизмов реализации противовоспалительных свойств экстракта является его прямое влияние на ингибирование циклооксигеназной реакции.

При различных патологиях наиболее часто наблюдается активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижение активности системы эндогенной антиоксидантной защиты, требующие соответствующей терапии средствами, обладающими антиокислительными свойствами. В этой

связи было проведено исследование антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности изучаемого экстракта.

При исследовании антиоксидантной активности (АОА) было установлено, что СБЭС в концентрации 300мкг/мл сохраняет более 90 % β -каротина в системе ДМСО-Н₂O₂, что свидетельствует о его выраженной антиоксидантной активности. АОА СБЭС в указанной концентрации сравнима с таковой у эталонного антиоксиданта ионола в концентрации 120 мкг/мл. Таким образом видно, что СБЭС является выраженным ингибитором процессов свободнорадикального окисления биомакромолескул.

При исследовании мембраностабилизирующего действия СБЭС в опытах *in vitro* наблюдали уменьшение в 3 раза по сравнению с контролем степени перекисного гемолиза эритроцитов, что свидетельствует о его мембраностабилизирующей активности (табл.12).

Таблица 12.

Влияние СБЭС на перекисный и осмотический гемолиз эритроцитов, (M±m)

Условия опыта	Концентрация, мг/мл	Перекисный гемолиз, %	Осмотический гемолиз, %
Контроль (гемолиз)	-	92,0 ± 1,5	84,0 ± 4,0
Опыт (гемолиз + СБЭС)	0,25	90,0 ± 2,0	81,0 ± 4,0
	0,50	88,0 ± 1,0	83,0 ± 1,0
	1,00	32,0 ± 3,0**	82,0 ± 6,0

Как известно, свободные радикалы, образующиеся при распаде реактива Фентона, индуцируют перекисное окисление липидов клеточных мембран с последующим лизисом клеток. В связи с этим можно полагать, что основой мембраностабилизирующего действия СБЭС является ингибирование процессов свободнорадикального окисления биомакромолескул.

Исследование общих фармакологических свойств сабельника болотного экстракта сухого

Исследование общей фармакологической активности сабельника болотного экстракта сухого проведено в соответствии с действующими требованиями, предъявляемыми к изучению новых лекарственных средств (Руководство..., 2005).

С целью исследования влияния СБЭС на функциональное состояние центральной нервной системы было изучено его влияние на ориентировочную и поведенческую активность лабораторных животных. Результаты исследований показали, что помещение животных, получавших СБЭС в дозе 100 мг/кг, в новые незнакомые условия – тест «открытое поле», приводит к повышению общей двигательной активности на 27,3 %, в основном, за счет увеличения вертикальной активности (на 70,6 %) и числа заглядываний в отверстия экспериментальной установки (на 63,6 %) по сравнению с данными контрольной группы. При этом введение крысам изучаемого экстракта не оказывало значимого влияния на увеличение горизонтальной активности по

сравнению с таковой у животных контрольной группы, что свидетельствует о снижении спонтанной двигательной активности и преобладании ориентировочно-исследовательского поведения у животных опытной группы. Таким образом, полученные в ходе тестирования в «открытом поле» данные позволяют заключить, что СБЭС в дозе 100 мг/кг массы снижает у животных уровень тревожности и повышает ориентировочно-исследовательское поведение.

С целью определения возможного влияния препарата на отдельные структуры центральной нервной системы, изучали его влияние на снотворные и судорожные эффекты фармакологических индикаторов - гексенала, камфоры и стрихнина.

Введение животным опытной группы СБЭС в дозе 100 мг/кг на фоне гексеналового сна способствует удлинению латентного периода и сокращает продолжительность наркотического сна более чем в 2 раза по сравнению с контролем. По-видимому, данный эффект обусловлен активацией монооксигеназной системы печени, от которой зависит скорость биотрансформации гексенала, что свидетельствует об антитоксических свойствах экстракта (табл.13).

Таблица 13.

Влияние СБЭС на продолжительность наркотического сна у белых крыс
($M \pm m, n=10$)

Группы животных	Гексенал 70 мг/кг	
	Латентный период, сек.	Продолжительность сна, сек.
Контрольная (Н ₂ О)	126,0 ± 31,80	1335,0 ± 201,73
Опытная (СБЭС)	203,0 ± 44,68	519,0 ± 92,10*

При изучении влияния СБЭС на течение камфорных судорог установлено, что исследуемый экстракт в дозе 100 мг/кг ослабляет токсическое действие камфоры в использованной дозе, о чем свидетельствует укорочение судорожного периода на 32% и уменьшение летальности на 30% у животных опытной группы по сравнению с контролем. С целью исследования противосудорожного действия СБЭС было проведено изучение его влияния на течение стрихнинных судорог. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение опытной группе животных СБЭС в дозе 100 мг/кг удлиняет время наступления судорог на 54,6 %, сокращает продолжительность судорожного периода на 40,6 % по сравнению с контролем, но без существенного изменения продолжительности жизни.

Таким образом, показано, что экстракт обладает антитоксическими и противосудорожными свойствами.

Изучение влияния СБЭС на функциональное состояние мочевыделительной у крыс показало, что однократное введение животным СБЭС в дозе 100мг/кг сопровождается повышением диуреза на 27,8 % по сравнению с контролем (табл. 14). Активность экстракта превосходила активность препарата сравнения.

Таблица 14.

Влияние СБЭС на функциональное состояние почек белых крыс ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	Скорость диуреза мкл/100 г час	Увеличение диуреза, %
Контрольная (H ₂ O)	190,7 ± 10,26	-
1 опытная (СБЭС)	243,7 ± 9,27*	27,8
2 опытная (канефрон)	219,18 ± 4,07	14,9

По результатам проведенных экспериментов установлено, что на функциональное состояние органов сердечно-сосудистой системы и системы органов пищеварения у крыс СБЭС в дозе 100 мг/кг не оказывал существенного влияние.

В ходе исследования влияния сабельника болотного экстракта сухого на картину периферической крови установлено, что однократное введение животным СЭСБ не изменяло морфологический состав крови белых крыс и содержание в ней гемоглобина.

Как правило, воспалительные заболевания суставов сопровождаются повышением способности тромбоцитов к агрегации, что, в свою очередь, увеличивает риск развития тромбоцических осложнений (Насонов, 1989).. С целью оценки воздействия СБЭС на тромбоцитарное звено гемостаза было изучено его влияние на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов у кроликов *in vitro*. Показано, что изучаемый экстракт в интервале концентраций 0,01-10,0 мг/мл оказывал небольшое, но достоверное ингибирующее влияние на агрегацию тромбоцитов, уменьшал степень агрегации на 10-37% по сравнению с контролем, что свидетельствует об его антиагрегационных свойствах, полезных для препарата противовоспалительного действия (табл. 15). По уровню антиагрегационной активности в концентрациях 0,01 и 0,1 мг/мл экстракт не уступал активности препарата сравнения – аспирина.

Таблица 15.

Влияние сабельника болотного экстракта сухого на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов *in vitro*

вещество	Степень агрегации A_{max} ($M \pm m$) в %					
	Концентрация добавленного вещества в пробе, мг/мл					
	контроль	0,01	0,10	0,50	1,00	10,00
СБЭС	58,6 ± 1,9	46,6 ± 1,7*	45,2 ± 1,9*	44,1 ± 1,4**	31,3 ± 1,4**	21,6 ± 1,9**
Аспирин	58,2 ± 3,5	47,9 ± 4,9	42,8 ± 1,9	29,4 ± 6,4*	6,9 ± 1,1**	1,6 ± 0,5**

Таким образом, анализ результатов экспериментальных доклинических исследований сухого экстракта из корней и корневищ сабельника болотного показал, что изучаемый экстракт в эффективной экспериментальной дозе, составляющей 100 мг/кг, обладает широким спектром фармакологических свойств. Исследуемый экстракт при внутрижелудочном введении животным в указанной дозе проявляет выраженное противовоспалительное действие, ограничивая развитие воспалительной реакции. СБЭС обладает выраженной антиэкссудативной активностью, о чем свидетельствует уменьшение степени экссудации при воспалении, вызванном флогогенными агентами с разным механизмом действия. СБЭС способствует преимущественно блокаде высвобождения воспалительных агентов (гистамина и др.) из базофилов и тучных клеток при действии различных повреждающих факторов. Также установлено, что изучаемый экстракт уменьшает выраженность альтерации и стимулирует регенерацию тканей. Наряду с этим у СБЭС выявлены жаропонижающие и анальгезирующие свойства, которые также являются специфическими для препарата противовоспалительного действия.

Исследование специфической активности СБЭС было проведено с использованием экспериментальных моделей заболеваний, характеризующихся выраженным воспалительным компонентом. На моделях острого и хронического артрита у крыс было показано, что курсовое введение СБЭС в дозе 100 мг/кг способствует уменьшению выраженности отека конечности, нормализации СОЭ. Также установлено, что под влиянием изучаемого экстракта происходит нормализация содержания иммуноглобулинов в крови животных с хроническим адьювантным артритом и снижение активности свободнорадикальных процессов с повышением активности эндогенной антиоксидантной защиты организма. Указанные свойства СБЭС позволяют предположить, что экстракт оказывает благоприятное воздействие на различные звенья как клеточного, так и гуморального иммунитета; участвует в подавлении фактора аутоиммунной перестройки организма, сопровождающего воспалительные системные заболевания, что согласуется с данными литературы (Gonzalez-Gau, 2005).

Исследование общей фармакологической активности СБЭС показало, что его однократное введение в желудок в дозе 100 мг/кг intactным животным снижает у животных уровень тревожности и повышает ориентировочно-исследовательское поведение. Также СБЭС проявляет антитоксическую и диуретическую активность. СБЭС оказывает антиагрегационное действие в условиях *in vitro*. Мы считаем, что указанные свойства исследуемого экстракта обусловлены наличием в его составе, прежде всего, комплекса полифенольных соединений. Свою положительную роль в проявлении вышеуказанной активности могут играть и другие БАВ экстракта сабельника, такие как полисахариды, аскорбиновая кислота, сапонины, микро- и макроэлементы, связанные и свободные аминокислоты (Жукова, 2007; Сокольская и др., 2008).

СБЭС оказывает непосредственное ингибирующее влияние на активность ЦОГ арахидоновой кислоты, угнетая скорость циклооксигеназной реакции *in vitro*, что вероятно является основным механизмом его противовоспалительного действия и соответствует данным литературы том, что противовоспалительные

вещества нестероидной природы обладают свойством ингибировать ЦОГ арахидоновой кислоты *in vitro* (Vane, 1995, Xie, 1992).

Учитывая данные литературы о ведущей роли свободнорадикальных процессов в патогенезе воспалительного процесса (Зенков, 2001; Cutler, 2003) можно полагать, что моллекулярно-клеточный механизм специфических эффектов СБЭС во многом обусловлен наличием у него антиоксидантных свойств, обеспечивающих защиту мембранных структур клеток от деструктивного действия свободных радикалов. Подтверждением указанного механизма действия СБЭС является выявленное его мембраностабилизирующее действие, о чем свидетельствует уменьшение выраженности перекисного гемолиза эритроцитов при действии повреждающих агентов. Нами установлено, что СБЭС оказывает как прямое антиоксидантное действие, ингибируя процессы свободнорадикального окисления, так и опосредованное, связанное с повышением мощности эндогенной антиоксидантной системы животных. В серии экспериментов *in vitro* было показано, что СБЭС обладает существенным антиоксидантным потенциалом, на что указывает ингибирование реакций свободнорадикального окисления. Установлено, что коэффициент антиоксидантной активности СБЭС сопоставим с таковым у классического антиоксиданта ионола. Также нами выявлено, что курсовое введение СБЭС при адьювантном артрите сопровождалось снижением в тканях концентрации продукта перекисидации (МДА), повышением активности ферментативного звена антиоксидантной системы (супероксиддисмутазы и каталазы) и повышением содержания восстановленного глутатиона, играющих важную роль в инактивации и утилизации гидропероксидов полиненасыщенных жирных кислот, перекиси водорода и других продуктов свободнорадикальных процессов.

Таким образом, анализ как результатов собственных исследований, так и литературных данных свидетельствует о том, что СБЭС оказывает как прямое, так опосредованное антиоксидантное действие, обеспечивая активацию антиокислительной защиты организма, восполнение пула структурных антиокислителей и уменьшение расхода резервов эндогенных антиоксидантов, что в конечном итоге обеспечивает инактивацию агрессивных продуктов свободнорадикальных процессов, ведущих к нарушению структурной и функциональной состоятельности биологических мембран (Cutler, 2003; Ляхович, Вавилин, Зенков, Меньщикова, 2006).

В целом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии у СБЭС выраженных противовоспалительных, болеутоляющих, жаропонижающих, иммуномодулирующих мембраностабилизирующих, антиоксидантных противосудорожных, антитоксических, диуретических, антиагрегационных свойств, что обеспечивает его положительное фармакотерапевтическое влияние на экспериментальные артриты.

Установленные нами свойства СБЭС определяют целесообразность его применения в клинической практике в качестве противовоспалительного средства как самостоятельно, так и в составе комбинированной терапии при деструктивно-воспалительных заболеваниях опорно-двигательного аппарата.

ВЫВОДЫ:

1. Показана специфическая противовоспалительная активность сабельника болотного экстракта сухого на моделях воспалительных отеков и острого асептического воспаления у крыс, проявляющаяся в виде антиэкссудативной активности, снижения альтерации и ускорения регенерации тканей, подтвержденная морфологическими методами исследования. Данная активность превосходила активность препарата сравнения канефрона.

2. В условиях специфической модели поражения сустава – хронического (адьювантного) артрита, сабельника болотного экстракт сухой заметно снижает выраженность воспалительного процесса; оказывает иммуномодулирующее действие, нормализуя показатели гуморального и клеточного звеньев иммунного ответа организма; ингибирует процессы свободнорадикального окисления, повышает активность ферментов эндогенной антиоксидантной системы защиты организма. В условиях эксперимента активность сабельника болотного экстракта сухого превосходила таковую у препарата сравнения индометацина. Установлено также, что сабельника болотного экстракт сухой проявляет антиагрегационную активность *in vitro* в условиях АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов кроликов.

3. В условиях моделей « укусных корчей » и « дрожжевой лихорадки » у крыс доказано наличие у сабельника болотного экстракта сухого анальгетических и жаропонижающих свойств соответственно

4. Показано, что сабельника болотного экстракт сухой оказывает положительное влияние на: функциональное состояние ЦНС, снижая у крыс уровень тревожности и повышая ориентировочно-исследовательское поведение, сокращая продолжительность наркотического сна (антитоксический эффект), проявляя противосудорожную активность; функциональное состояние мочевыделительной системы, повышая диуретическую функцию почек. Экстракт сабельника не оказывает негативного влияния на функции сердечно-сосудистой и пищеварительной систем.

5. Выявлены мембраностабилизирующие и антиоксидантные свойства сабельника болотного экстракта сухого. Доказано, что одним из ведущих механизмов противовоспалительного действия сабельника болотного экстракта сухого является непосредственное ингибирование *in vitro* активности цикломонооксигеназы арахидоновой кислоты. Установлено также, что молекулярно-клеточными механизмами противовоспалительного действия сабельника болотного экстракта сухого является ингибирование процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул и повышение активности ферментов антиоксидантной защиты организма.

Внедрение полученных результатов в практику

Полученные результаты показали целесообразность разработки лекарственного средства для лечения заболеваний опорно-двигательного аппарата на основе СБЭС.

Результаты диссертационной работы вошли в основную часть материалов доклинического фармакологического досье для предоставления в Росздравнадзор РФ с целью регистрации препарата из сабельника болотного экстракта сухого в качестве лекарственного средства для лечения воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Ферубко Е.В., Колхир В.К., Лескова Т.Е. Мондодоев А.Г., Николаев С.М., Сайбель О.Л. Оценка влияния экстракта сабельника болотного на течение хронического артрита // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.- № 4.-2008.-С.14-17.
2. Ферубко Е.В., Шаптанова Л.Н., Мондодоев А.Г. Изучение влияния сабельника экстракта сухого на течение экспериментального перитонита //Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов.- Пятигорск, 2008.- Вып. 63.- С.510-512.
3. Ферубко Е.В., Ажунова Т.А., Мондодоев А.Г. Изучение фармакотерапевтической активности сухого экстракта сабельника болотного при остром артрите // Сборник материалов (тезисы докладов) XV Российского национального конгресса «Человек и лекарство».- М., 2008.-С.716
4. Ферубко Е.В., Тэн Н.В. Влияние экстракта *Comarum palustris* L. на течение экспериментального артрита // Материалы 7-ой региональной межвузовской конференции «Медицина завтрашнего дня». – Чита, 2008. – С.143-144.
5. Ажунова Т.А., Бикмулина Г.А., Разуваева Я.Г., Мондодоев А.Г., Хобракова В.Б., Ферубко Е.В. Влияние сухого экстракта сабельника болотного на течение экспериментального гломерулонефрита // Сибирский медицинский журнал.- 2008, № 2. – С. 76-78.
6. Ферубко Е.В., Лескова Т.Е., Багинская А.И., Колхир В.К. Исследование противовоспалительной активности сухого экстракта сабельника болотного // Вестник РУДН серия «Медицина».- 2008, № 7.- С. 171-176.
7. Ferubko E.V., Ten N.V., Toropova A.A. The influence of *Comarum palustris* L. dry extract on the course of experimental arthritis // Materials of the III international scientific conference «Traditional medicine: a current situation and perspectives of development» - Ulan-Ude, 2008. –P. 98.
8. Ферубко Е.В., Николаев С.М., Мондодоев А.Г. Влияние экстракта сабельника на течение острого артрита в эксперименте // Вестник Бурятского государственного университета. Серия «Медицина». – 2008, №12. С. 21-24.

Подписано в печать: 08.05.2009

Заказ № 2013 . Тираж - 100 экз.

Печать трафаретная.

Типография «11-й ФОРМАТ»

ИНН 7726330900

115230, Москва, Варшавское ш., 36

(499) 788-78-56

www.autoreferat.ru