

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

БЫЧЕНКОВА МАРИНА АНАТОЛЬЕВНА

ВЛИЯНИЕ ГУСТОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ПЕРВОЦВЕТА
ВЕСЕННЕГО НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ
СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:
к.м.н. Иксанова Галина Роэлевна

НАУЧНЫЙ КОНСУЛЬТАНТ:
д.б.н., доцент
Перфилова Валентина Николаевна

УФА- 2019

Оглавление	
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ, КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ И ГИПОТЕНЗИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФИТОПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	12
1.1 Этиология и патогенез ХСН и АГ	12
1.2 Роль эндотелиальной дисфункции в развитии ХСН и АГ	14
1.3 Изменения в системе плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза при ХСН и АГ.....	166
1.4 Состояние оксидантной и антиоксидантной систем при ХСН	188
1.5 Роль современных биомаркеров в ранней диагностике ХСН	200
1.6 Кардиопротекторное и гипотензивное действие фитопрепаратов	211
1.7 Терапевтический потенциал ГЭТПВ	266
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	366
2.1 Экспериментальные животные и исследуемые объекты	36
2.2 Моделирование экспериментальной ХСН и изучение функциональных резервов сердца	38
2.3 Моделирование экспериментальной АГ и измерение АД	39
2.4 Оценка вазодилатирующей функции эндотелия в условиях ЭАГ и ХСН	40
2.5 Изучение параметров плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза при ЭАГ и ХСН	41
2.6 Определение маркеров ЭАГ и ХСН в сыворотке крови животных	42
2.7 Изучение функционального состояния и оксидантно/антиоксидантной системы митохондрий кардиомиоцитов крыс с экспериментальной ХСН	43
2.8 Статистическая обработка	46
ГЛАВА 3 ГИПОТЕНЗИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЭТПВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ.....	488
3.1 Зависимость гипотензивного эффекта от дозы ГЭТПВ при экспериментальной стресс-индуцированной артериальной гипертензии .	488

3.2 Влияние ГЭТПВ на артериальное давление и ЧСС в условиях комбинированной экспериментальной артериальной гипертензии, вызванной стрессом+ заменой питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида.....	511
3.3 Действие густого экстракта из травы первоцвета весеннего на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях экспериментальной артериальной гипертензии	532
3.4 Влияние ГЭТПВ на показатели плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза животных с ЭАГ	543
3.5 Изменение концентрации СРБ и фактора фон Виллебранда у животных с ЭАГ под действием ГЭТПВ	587
ГЛАВА 4 КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЭТПВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХСН	61
4.1 Зависимость кардиопротекторного действия ГЭТПВ от дозы при экспериментальной ХСН.....	632
4.2 Влияние густого экстракта из травы первоцвета весеннего на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях экспериментальной хронической сердечной недостаточности	71
4.3 Антиагрегантная и антикоагулянтная активность ГЭТПВ в условиях экспериментальной хронической сердечной недостаточности	76
4.4 Изменение концентрации адреномедуллина и копептина у животных с экспериментальной ХСН под действием ГЭТПВ	778
4.5 Влияние ГЭТПВ на развитие оксидативного стресса и функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов крыс с экспериментальной ХС .	81
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	91
ВЫВОДЫ.....	101
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	103
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	105
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) многие годы являются лидирующей причиной смертности во всем мире и, согласно статистике Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), составляют 57% общей смертности в России (Л.О.Палаткина и др., 2012; В.Н. Ларина и др., 2016). В мире распространенность хронической сердечной недостаточности (ХСН) среди взрослого населения в целом равна 2% (1–3%) и 5–9% в возрасте 65 лет и старше. В Российской Федерации в популяции I-IV функциональных классов (ФК) она составляет 7% случаев (7,9 млн человек), клинически выраженная (ХСН II-IV ФК) регистрируется у 4,5 % населения (5,1 млн человек), а терминальная ХСН (III-IV ФК) - 2,1 % случаев (2,4 млн человек) (В.П.Михин и др., 2012; Э.Б.Фролова и др., 2013; Клинические рекомендации, хроническая сердечная недостаточность, 2018; S. Ewen et al., 2016; Е.Е. J.Chahine et al., 2019). Несмотря на то, что методы диагностики и лечения ХСН постоянно совершенствуются, число таких больных заметно растет. На терапию пациентов расходуются огромные средства: от 1 до 2% бюджета здравоохранения в любой экономически развитой стране (Ю.В.Лискова и др., 2015; J.Chahine et al., 2019).

Нескрываемый интерес к ХСН и артериальной гипертензии (АГ) в нашей стране, и за рубежом обусловлен не только ростом числа больных, но и плохим прогнозом заболевания, значительным увеличением количества госпитализаций, ранней инвалидизации и смертности (М.Е.Стаценко и др., 2010; Б.Э.Фролова и др., 2013; Д.С. Митрохина и др., 2014; Ю.В.Лискова и др., 2015; Е.А.Полунина и др., 2015; J.A.Wermelt et al., 2017). Данные Фремингемского исследования убедительно показали, что наличие АГ в 2–4 раза повышает вероятность развития ХСН, острого нарушения мозгового кровообращения, ишемической болезни сердца и хронической почечной недостаточности (В.А. Куликов, 2012; A.Handschin et al., 2015).

Данные американских и европейских эпидемиологических исследований однозначно свидетельствуют о том, что ХСН и АГ до сих пор остаются одними из самых распространенных, прогрессирующих и прогностически неблагоприятных состояний системы органов кровообращения (Ю.В. Лискова и др., 2015; J.Chahine et al., 2019; R. Orzechowski et al., 2019).

Общепризнанными механизмами формирования ХСН считаются нарушение сократительной (насосной) функции сердца и ремоделирование миокарда (Т.М.Мазитов и др., 2013; О.М.Драпкина и др., 2014; M.Genet et al., 2015). Также важна роль эндотелия в развитии сердечно-сосудистых заболеваний, обладающего сосудодвигательной, антитромбоцитарной, антикоагулянтной, тромболитической, противовоспалительной, антиоксидантной и антипролиферативной активностью. Эндотелию принадлежит важная роль в развитии атеросклероза, ремоделировании сосудов, ангиогенезе (J.Maupoint et al., 2016; M.Zhong et al., 2016; S.Kishimoto et al., 2017).

Эндотелиальная дисфункция (ЭД) - нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации и взаимодействия между эндотелием, тромбоцитами и регуляторными молекулами (E.Gkaliagkousi et al., 2015; O.Yang et al., 2015; J.M.Ter Maaten et al., 2016; A.V.Gevaert, 2017; D. Konukoglu, H. Uzun, 2017) проявляется вазоконстрикцией, активацией системы гемостаза, инициацией развития прокоагулянтных изменений при ХСН и АГ, повышенной адгезией и агрегацией тромбоцитов (Е.А.Полунина и др., 2014; J.C. Schefold et al., 2012).

Важная роль в патогенезе ХСН принадлежит также интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Е.В. Базаева и др., 2017; P.M.C. Mommersteeg et al., 2016; L.F. Shirazi et al., 2017). Окисление является мощным повреждающим фактором при условии избыточного образования свободных радикалов и/или нарушения антиоксидантной защиты. Патологический синтез активных форм кислорода (АФК) и последующее

снижение концентрации в сосудах оксида азота (NO) выступает в качестве общего патогенетического механизма ЭД (Ю.Н. Беленков и др., 2009; А.М. Пристром, М. Бенхамед, 2012; С.Passino et al., 2014; G.L.Xiong et al., 2015; G.A. Ribeiro-Samora et al., 2017; L.F. Shirazi et al., 2017).

Лекарственные средства для терапии ХСН и АГ даже у лиц, получающих адекватное, регулярное лечение, не всегда эффективны (В.П.Михин, Ф.Е.Хлебодаров, 2010). Поэтому поиск новых веществ для фармакологической коррекции этих заболеваний представляется необходимым в сложившейся ситуации. Перспективными в данном аспекте являются фитопрепараты. ВОЗ определяет лекарственные препараты растительного происхождения как один из важнейших источников адаптированных биологически активных соединений, которые необходимы для лечения и усиления защитных сил организма при различных заболеваниях, к тому же большая широта терапевтического действия, низкая токсичность и возможность длительного применения с малым риском возникновения побочных эффектов позволяют фитопрепаратам успешно конкурировать с синтетическими (N.H. Ahmad et al., 2010, J.C. Tilburt, T.J. Kaptchuk., 2013; Rivera et al., 2013). Известно, что они участвуют в реакциях окисления и восстановления, а также выступают в роли биологических корректоров, способных регулировать все жизненные функции и биохимические процессы в организме (D. Aekthammarat et al., 2018).

Первоцвет весенний является богатым источником поливитаминов, тритерпеновых сапонинов, органических кислот, полифенольных соединений (Г.М. Латыпова, 2015). Выявленная в ранее проведенных исследованиях эндотелио-, ангиопротекторная, антигипоксанта и антикоагулянтная активности у густого экстракта из травы первоцвета весеннего (ГЭТПВ) (*Primula veris L.*) (Д.Ф. Иванова и др., 2013; Г.М. Латыпова и др., 2014; 2015; Патент №2342942 Российская Федерация) позволяет предполагать наличие у него влияния на течение сердечно-сосудистых заболеваний.

Степень разработанности проблемы

Существенный вклад в изучение этиологии, патогенеза, диагностики, профилактики и лечения АГ и ХСН внесли ведущие российские и зарубежные ученые: Ф.Т. Агеев, Ю.Н. Беленков, Л.А. Бокерия, М.Л. Гуревич, О.М. Драпкина, Л.Б. Лазебник, Л.Т. Малая, В.Ю. Мареев, Б.А. Сидоренко, С. Berry, W.L. Miller, M. Genet, S. Kovačić, S. Kishimoto, J. Maupoint, M. Zhong. В настоящее время считается, что ключевую роль в патогенезе ХСН и АГ играет эндотелиальная дисфункция (А.М. Пристром, М. Бенхамед, 2012; И.В. Плотникова и др., 2015; В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова, 2016; Q.N. Dinh et al., 2014; G.L. Xiong et al., 2015; O. Yang et al., 2015; A.B. Gevaert et al., 2017; D. Konukoglu, H. Uzun, 2017; G.A. Ribeiro-Samora et al., 2017; L.F. Shirazi et al., 2017), которая вызывает сужение сосудов, гиперкоагуляцию, повышение степени агрегации тромбоцитов, что способствует тромбообразованию. Ведется активный поиск новых биологически активных веществ для лечения АГ и ХСН (А.А. Теслев и др., 2014; З.М. Ахильгова и др., 2018). Однако мало внимания уделяется перспективам использования фитопрепаратов для патогенетической терапии ХСН и АГ.

Цель исследования

Оценка влияния густого экстракта из травы первоцвета весеннего на течение экспериментальной хронической сердечной недостаточности и артериальной гипертензии.

Задачи исследования

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. Изучить гипотензивное и кардиопротекторное действие ГЭТПВ при экспериментальной стресс-индуцированной АГ и ХСН, вызванной изопротеренолом. Проанализировать зависимость фармакологических эффектов от дозы ГЭТПВ.

2. Исследовать действие ГЭТПВ на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях экспериментальной АГ (ЭАГ) и ХСН.
3. Изучить влияние ГЭТПВ на показатели плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза животных с ЭАГ и ХСН.
4. Оценить изменение концентрации СРБ и фактора фон Виллебранда у животных с ЭАГ и ХСН под действием ГЭТПВ.
5. Оценить изменение концентрации адренomedулина и копептина у животных с экспериментальной ХСН под действием ГЭТПВ.
6. Изучить влияние ГЭТПВ на развитие окислительного стресса и функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов крыс с экспериментальной ХСН.

Научная новизна

Впервые получены данные о гипотензивном и кардиопротекторном действии ГЭТПВ в условиях экспериментальной ХСН и АГ. Показана эффективность его влияния на инотропные резервы сердца, функцию эндотелия, показатели плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, процессы ПОЛ, активность антиоксидантных ферментов, функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов у крыс с ЭАГ и ХСН. Проведена оценка изменения концентрации биомаркеров ХСН в сыворотке крови животных под влиянием ГЭТПВ. По результатам исследования получен патент №2654706 от 22 мая 2017 г. «Средство растительного происхождения, проявляющее кардиотоническую активность при хронической сердечной недостаточности».

Теоретическая и практическая значимость работы.

Выявлены гипотензивная и кардиопротекторная активности ГЭТПВ в условия ЭАГ и ХСН. Показано, что исследуемое вещество улучшает вазодилатирующую функцию эндотелия, обладает антиагрегантными и антикоагулянтными свойствами, способностью ограничивать процессы ПОЛ, улучшать дыхательную функцию митохондрий. В совокупности, полученные данные позволяют считать исследуемый экстракт перспективным для

расширенного доклинического изучения в качестве средства лечения АГ и ХСН.

Методология и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами использованы современные информативные подходы, имеющиеся в ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Объектами исследования явились белые беспородные крысы. Изучение кардиопротекторных и гипотензивных свойств ГЭТПВ проводили согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению лекарственных средств (А.Н. Миронов, 2012). Были использованы соответствующие методы статистической обработки данных.

Положения, выносимые на защиту:

1. ГЭТПВ оказывает дозозависимое гипотензивное действие при экспериментальной стресс-индуцированной АГ.

2. Исследуемый экстракт обладает кардиопротекторным действием, о чем свидетельствует сохранение функциональных резервов сердца на более высоком уровне у животных, получавших препарат, по сравнению с контрольной группой в условиях экспериментальной ХСН.

3. ГЭТПВ у крыс с ЭАГ и ХСН выражено улучшает вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия, что проявляется в увеличении кровотока в сонной артерии в ответ на введение ацетилхолина (стимулятора синтеза эндогенного оксида азота) и снижение на N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME, неселективный блокатор NO-синтазы), нормализации показателей плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза.

4. ГЭТПВ обладает антиоксидантным действием, снижает содержание продуктов ПОЛ, усиливает активность ферментов АОС, улучшает дыхательную функцию митохондрий кардиомиоцитов что, возможно, лежит в основе его эндотелио- и кардиопротекторного действия.

Реализация результатов

Результаты исследования включены в лекционный материал для студентов лечебного, педиатрического, фармацевтического факультетов, слушателей института последипломного образования врачей и провизоров на кафедрах фармакологии и фармации ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Методические подходы доклинического фармакологического изучения ГЭТПВ используются в научно-исследовательской работе кафедр фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ, Научного центра инновационных лекарственных средств ВолгГМУ, кафедрах фармакологии и фармации ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов

Исследование проведено с использованием высокотехнологичного оборудования согласно «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств», получен достаточный объем экспериментальных данных, который подвергался статистической обработке, что позволяет судить о достоверности полученных результатов. Материалы работы докладывались и обсуждались на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фармацевтическое образование, современные аспекты науки и практики» (Уфа, 2016); 75-ой, 76-ой Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» Волгоградского Государственного Медицинского Университета (Волгоград, 2017, 2018), XII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых-медиков «Молодежь – практическому здравоохранению» Тверского Государственного Медицинского университета (Тверь, 2018).

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК РФ, получен 1 патент на изобретение.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 152 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 2 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка используемой литературы, включающего 260 источника, из них 102 отечественных и 158 зарубежных авторов, приложения на 15 страницах. Работа иллюстрирована 15 таблицами, 25 рисунками.

ГЛАВА 1 СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ ОБ ЭТИОЛОГИИ И ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ И АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ, КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ И ГИПОТЕНЗИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ФИТОПРЕПАРАТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Этиология и патогенез ХСН и АГ

Основным этиологическим фактором ХСН, по данным Фремингемского исследования, является ИБС (59%), на долю артериальной гипертензии приходится 29% и клапанных пороков сердца -9% (Л.В. Савченкова и др., 2007, D.S.H. Bell, E. Goncalves, 2019), в России основными причинами являются АГ -88% случаев и ИБС -59%случаев (Э.Б. Фролова и др., 2013).

Развитие ХСН происходит по единым патофизиологическим законам независимо от этиологического фактора (M.Genet et al., 2016; W.L. Miller, 2016). Она представляет собой комплекс разнообразных патологических изменений сердца, нарушений нейроэндокринной регуляции, приводящих к систолической или диастолической кардиальной дисфункции, вследствие которых сердце постепенно теряет способность обеспечивать адекватное кровоснабжение органов и тканей (Г.В. Дзяк, Л.И. Васильева, 2009; Э.Б.Фролова и др., 2013; M.S. Kim et al., 2019).

Общепризнанными механизмами формирования ХСН в настоящее время считаются нарушение сократительной (насосной) функции сердца и ремоделирование миокарда. С прогрессированием ХСН сердечная мышца теряет способность в различной степени выталкивать кровь в сосудистое русло в систолу и/или адекватно наполняться в диастолу (Т.М. Мазитов и др., 2013; О.М. Драпкина, Л.О. Палаткина, 2014; M. Genet et al., 2015).

Также в появлении и прогрессировании симптомов ХСН важное значение имеет возбуждение симпатической нервной системы, которое, наряду с повышением активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), приводит к задержке ионов натрия и воды, вазоконстрикции и снижению сократительной функции левого желудочка (ЛЖ) сердца (О.М. Драпкина, Л.О. Палаткина, 2014; Н.В. Медведев, Н.К. Горшунова, 2014).

В механизмах развития ХСН тесно взаимодействуют нейрогуморальные и гемодинамические факторы. Плазменные циркулирующие нейрогуморальные системы активируются уже на самых ранних стадиях и играют ведущую роль в прогрессировании ХСН. Они обладают двойственными свойствами: способствуют компенсации деятельности сердечно-сосудистой системы как ответ на снижение сердечного выброса, а также стимулируют прогрессирование декомпенсации (Г.В. Дзяк, Л.И. Васильева, 2009; M. Genet et al., 2015).

Одним из ведущих патогенетических механизмов ХСН является усиление симпатической и подавление парасимпатической активности. Активация симпатической нервной системы при ХСН имеет приспособительный характер и направлена на увеличение сердечного выброса благодаря мощному положительному инотропному эффекту (S. Kovačić et al., 2016).

Хроническая сердечная недостаточность характеризуется увеличением пред- и постнагрузки, повышением ЧСС и сократимости миокарда, артериальной вазоконстрикцией (вследствие активации РААС и выброса ангиотензина II), гипертрофией миокарда желудочков. К тому же возникают ранняя дилатация и дисфункция (ремоделирование) ЛЖ, снижение перфузии органов и тканей, задержка натрия и воды, увеличение объема циркулирующей крови (ОЦК) (как следствие роста выработки альдостерона корковой зоной надпочечников и антидиуретического гормона гипофизом),

формирование отеков (Г.В. Дзяк, Л.И. Васильева, 2009; S. Kovačić et al., 2016).

В большинстве случаев причиной повышенного артериального давления (АД) служит эссенциальная гипертензия, которая является полиэтиологическим заболеванием. Причины ее возникновения могут быть: экзогенные- питание, низкая физическая активность, психоэмоциональное напряжение, курение, потребление большого количества поваренной соли; эндогенные- наследственность, масса тела, рост, пол, личностные характеристики (L. Meng et al., 2012; W. Januszewicz et al., 2014; Z. Li et al., 2015; M.Y. Liu, 2017; F.Maranta et al., 2017).

1.2 Роль эндотелиальной дисфункции в развитии ХСН и АГ

Многочисленные исследования убедительно показали важную и самостоятельную роль эндотелия в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Здоровый эндотелий имеет существенное значение для регуляции сердечно-сосудистой системы. Этот тонкий полупроницаемый слой клеток выстилает изнутри сердце и сосуды, отвечает на механические раздражители, такие как давление, а также гормональные — вазоактивные субстанции и непрерывно вырабатывает огромное количество важнейших биологически активных веществ: вазодилататоров и антиагрегантов (оксид азота (NO), брадикинин, простаглицлин, простаглицландин E2, эндотелиальный фактор гиперполяризации), вазоконстрикторов и проагрегантов (эндотелин-1 (ЭТ-1), ангиотензин II (АТ II), серотонин, простаглицландин F2 α , лейкотриены C4, D4, гепарин, активаторы плазминогена, факторы роста. Он также обладает сосудодвигательной, антитромбоцитарной, антикоагулянтной, тромболитической, противовоспалительной, антиоксидантной и антипролиферативной активностью. Эндотелию принадлежит важная роль в развитии атеросклероза, ремоделировании сосудов, ангиогенезе (J. Maupoint et al., 2016; M. Zhong et al., 2016; S. Kishimoto et al., 2017; E.A. Polunina et al., 2018).

Имеются веские доказательства участия эндотелиальной дисфункции в генезе артериальной гипертензии, ишемии миокарда, возникновении коронарного тромбоза, ремоделирования ЛЖ и развитии ХСН. Дисфункция эндотелия является следствием целого ряда причин: нарушения гемодинамики, которые сопровождаются изменением гидростатического давления, скорости и структуры потока, деформацией и закупоркой сосудов; нарушением реологических свойств крови, которые развиваются как итог гемоконцентрации, агрегации форменных элементов крови внутри сосудов, увеличения вязкости. Термин «эндотелиальная дисфункция» (ЭД) используется для описания уменьшения эндотелий-зависимой вазодилатации; а также включает в себя нарушение взаимодействия между эндотелием, тромбоцитами и регуляторными молекулами. Существенное значение в развитии ЭД имеют также метаболические изменения, воздействие цитокинов, хемокинов и иммунных комплексов (E.Gkaliagkousi et al., 2015; O. Yang et al., 2015; J.M. Ter Maaten et al., 2016; A.B. Gevaert et al., 2017; R. Cunard, 2017; D.Konukoglu, H. Uzun, 2017).

ЭД сопровождает митогенез, ангиогенез, повышение сосудистой проницаемости (I. Mordí et al., 2016), является предиктором повышенного риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и важным звеном в их патогенезе (А.Р. Заирова, Е.В. Ощепкова, 2013; E.Gkaliagkousi et al., 2015; R. Furuuchi et al., 2018).

Возможным механизмом ЭД при АГ является снижение базального синтеза NO, что подтверждают исследования сосудистых эффектов ингибитора эндогенного синтеза NO аналога L-аргинина – L-NMMA (NG-nomomethyl-L-arginin). Многочисленные клинические исследования позволили предположить, что ЭД играет заметную патофизиологическую роль в нарушении периферического кровообращения у больных АГ. Результаты исследования свидетельствуют о снижении базальной и стимулированной секреций NO при АГ и увеличении констрикторных веществ, продуктов циклогеназной реакции (A. Yannoutsos et al., 2014).

В ряде исследований нарушение свойств эндотелия рассматривается в качестве основного механизма становления артериальной гипертензии и ХСН. При нарушении функций клеток эндотелия ухудшается эндотелийзависимое расслабление из-за уменьшенного синтеза NO, при сохраненной (или увеличенной) продукции эндотелийзависимых вазоконстрикторов: ангиотензина II, эндотелина-1 (И.В.Плотникова и др., 2015; В.И. Подзолков А.И. Тарзиманова, 2016; Q.N. Dinh et al., 2014). Оксид азота в избытке проявляется в нормально функционирующей сосудистой сети, где действует как вазодилататор, ингибирует воспаление и оказывает антиагрегантное действие на тромбоциты. Его истощение является как признаком, так и причиной эндотелиальной дисфункции, вызванной снижением активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и усиленной продукцией никотинамидадениндинуклеотидоксидазы, что, в свою очередь, приводит к повышению уровня активных форм кислорода (С. Bleakley et al., 2015).

1.3 Изменения в системе плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза при ХСН и АГ

ЭД проявляется активацией системы гемостаза, инициацией развития прокоагулянтных изменений при ХСН и АГ повышенной адгезией и агрегацией тромбоцитов (Е.А. Полунина и др., 2014; J.C. Schefold et al., 2012). Доказано, что маркерами эндотелиальной дисфункции являются снижение эндотелийзависимой вазодилатации сосудов и изменение содержания в крови фактора Виллебранда (фВ) (У.К. Камилова, Ч.А. Абдуллаева, 2014; L.R. Meirelles et al., 2011; S. Kishimoto et al., 2017).

Значительна также роль воспаления в развитии ХСН и АГ. Оно взаимосвязано с активацией системы гемостаза и способствует развитию прокоагулянтных изменений при этих заболеваниях (J. Hu et al., 2018). При этом в кровотоке появляются маркеры, отражающие степень повышения гемостатического потенциала крови: фибриноген, фВ (В.М. Шмелева и др.,

2009; C. Passino et al., 2015; G.L. Xiong et al., 2015; G.A. Ribeiro-Samora et al., 2017). Фибриноген является независимым фактором риска ССЗ и их осложнений. В ранее проведенных исследованиях была обнаружена достоверная положительная корреляция показателей АД с уровнем фибриногена (S.Y. Jae et al., 2015; A. Steptoe et al., 2016).

Фактор Виллебранда представляет собой популяцию гликопротеинов, регулирующих адгезию тромбоцитов к поврежденным тканям сосудов и агрегацию тромбоцитов. Он синтезируется в эндотелиальных клетках и мегакариоцитах (В.М. Шмелева и др., 2009). Повышенное содержание фВ характеризует острофазовую реакцию, а также состояния, сопровождающиеся повреждением сосудистой стенки, по этой причине он широко используется в клинической практике как маркер эндотелиальной дисфункции (М.Е. Kleber et al., 2015; G.L. Xiong et al., 2015).

Пациенты со сниженной систолической функцией ЛЖ имеют более высокие уровни фВ по сравнению с лицами с нормальной функцией (S.G. Wannamethee et al., 2016; H.J. Reich et al., 2017). Рядом исследователей отмечено повышение его при АГ (C.S. Bürgin-Maunder et al., 2015). Плазменные уровни комплекса «тромбин — антитромбин III» также повышены при ХСН, положительно коррелируют с конечно-диастолическим объемом левого желудочка и отрицательно — с фракцией выброса (H.J. Reich et al., 2017).

В физиологических условиях тромбогенные и атромбогенные субстанции находятся в равновесном состоянии. Вследствие структурно-функциональных нарушений эндотелия увеличивается синтез и секреция эндотелиоцитами тромборегуляторов (K.I. Cho et al., 2014). При этом повышается содержание внутриклеточного кальция в тромбоцитах, что приводит к повышению их агрегационной способности (В.В. Сыволап, М.Ю. Колесник, 2007; A. Haynes et al., 2017).

Активации тромбоцитов при ХСН способствуют также гемодинамические факторы: дилатированные сердечные камеры, нарушения

глобальной и регионарной сократимости, фибрилляция предсердий (N. Glezeva et al., 2016; J. Medamana et al., 2017). Значительная часть осложнений АГ обусловлена тромбозом, развивающимся в связи с нарушением регуляции гемостаза (Н.Х. Резяпова и др., 2010; H.D. Sesso et al., 2015). Тромбоциты, по всей видимости, играют немаловажную роль в патогенезе гипертонической болезни: изменяется их число и функциональные свойства, что сопровождается выделением вазоактивных медиаторов, способствующих локальному вазоспазму и увеличению агрегации тромбоцитов, что повышает риск тромботических осложнений. Доказано, что повышение уровня АД положительно коррелирует с агрегацией трмбоцитов, потенцированной эндотелином-1 (В.И. Козловский, О.П. Сероухова, 2008; M.V. Moss et al., 2010).

Необходимо также отметить роль оксида азота в ограничении тромбоцитарной дисфункции при ХСН и АГ. Показано, что максимальная и конечная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов у животных с ХСН, получавших донор оксида азота тетранитрат пентаэритрита (PETN), значительно снижена по сравнению контрольной группой (U. Flierl et al., 2015).

1.4 Состояние оксидантной и антиоксидантной систем при ХСН

Наряду с активацией нейрогормонов важная роль в патогенезе ХСН принадлежит иммунно-воспалительным реакциям, повышенному производству провоспалительных цитокинов и интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Е.В. Базаева и др., 2017; P.M.C. Mommersteeg et al., 2016; L.F. Shirazi et al., 2017).

ПОЛ -свободнорадикальное окисление жирных кислот, которое лежит в основе окислительного стресса, характеризующееся процессами аутоокисления углеводов, протекающих в мембранах или других липид-содержащих компонентах клетки. Факторами инициации процессов ПОЛ

являются супероксидный и гидроксильный радикалы, которые взаимодействуют с полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) боковых цепей липидов. Начинается цепной свободнорадикальный процесс. Причиной окислительного стресса (ОС) может быть, как увеличение продукции свободных радикалов, так и снижение эффективности антиоксидантных систем организма. Основной повреждающий эффект свободных радикалов - разрушение мембран клеток, модификации белков и ДНК. Кроме мембран, чувствительны к свободно-радикальному окислению и липопротеины плазмы. Предполагают, что их окислительная модификация является одной из причин возникновения атеросклероза. Антиоксидантная система (АОС) представлена совокупностью защитных механизмов клеток, тканей, органов и систем, направленных на сохранение и поддержание гомеостаза в организме. АОС включает ферменты: глутатионпероксидазу, супероксиддисмутазу и каталазу, а также соединения низкомолекулярной и белковой природы. В норме между прооксидантной и антиоксидантной системами поддерживается равновесие, которое характеризует антиоксидантный статус организма. Окисление становится мощным повреждающим фактором при условии избыточного образования свободных радикалов и/или нарушения антиоксидантной защиты. Патологический синтез активных форм кислорода (АФК) и последующее снижение концентрации в сосудах NO – общий патогенетический механизм эндотелиальной дисфункции. Супероксид ион при взаимодействии с азотом образует чрезмерное количество пероксинитрита, который является реактивной разновидностью азота. При этом ускоряется атеросклеротический процесс, вазоконстрикция, происходят прямые структурные повреждения кардиомиоцитов и провоцируется дальнейшее производство АФК (Ю.Н. Беленков и др., 2009; А.М. Пристром, М. Бенхамед, 2012; C.Passino et al., 2014; G.L.Xiong et al., 2015; GA. Ribeiro-Samora et al., 2017; L.F. Shirazi et al., 2017).

Обнаружено, что у больных с клинически значимой ХСН уровень малонового диальдегида (МДА) – продукта деградации полиненасыщенных жирных кислот и показателя активности окислительного стресса – выше, чем у пациентов без клинических проявлений. К тому же выявлена корреляция между уровнем МДА и ФК ХСН (Е.В. Базаева и др., 2017).

Равновесие между производством АФК и их удалением антиокислительными системами описывают как «окислительно-восстановительное состояние клетки». Патологический дисбаланс в пользу избыточного производства АФК называется ОС (R. Gál, R. Halmosi, 2015; M.Uchihashi et al., 2017;). При этом маркеры ОС обнаруживаются в крови и в перикардиальной жидкости. Доказано, что активность антиокислителей не уменьшается при ХСН, а ОС развивается в первую очередь за счет повышения генерации проокислителей, а не за счет снижения антиокислительной защиты (АОЗ) (Л.О. Палаткина и др., 2012; Д.О. Оконько, А.М. Шах, 2014; S. Costa et al., 2016).

1.5 Роль современных биомаркеров в ранней диагностике ХСН

Существующие клинические соглашения отражают важность наиболее ранней верификации ХСН, своевременного проведения профилактических и лечебных мероприятий. При этом одной из стратегий является биомаркерная идентификация риска, тяжести заболевания, вероятного исхода и ответа на лечение (target-to-treat strategy) (А.Е.Березин, 2013). В Рекомендациях по диагностике и лечению ХСН (ОССН, РКО и РНМОТ, четвертый пересмотр, 2013) натрийуретические пептиды (мозговой натрийуретический пептид - BNP и предшественник мозгового натрийуретического пептида - NT-proBNP) являются золотым стандартом среди сердечных биомаркеров. Однако, в новых рандомизированных клинических исследованиях в отношении BNP и NT-proBNP были получены весьма противоречивые результаты (С.Е. Jackson et al., 2016; P.Welsh et al., 2018). Показано, что они не могут служить маркерами ремоделирования сердца и фиброза, хотя и коррелируют с

уровнями металлопротеиназ крови (J. Wang et al., 2017). По данным литературы адреномедуллин и копептин являются сопоставимыми и в ряде случаев более значимыми предикторами тяжести сердечной недостаточности и риска смерти пациентов, чем NT-proBNP (L. Balling, F. Gustafsson, 2014; A. Funke-Kaiser et al., 2014; Z. Pozsonyi et al., 2015; G. Schurtz et al., 2015; H.D. Düngen et al., 2018; T.Nishikimi, Y. Nakagawa, 2018; T. Tsuruda et al., 2018;).

Копептин - С-концевой фрагмент (из 39 аминокислот) предшественника аргинина-вазопрессина, который отражает его продукцию, являясь более тонким маркером острого эндогенного стресса в сравнении с кортизолом. Ряд исследований показал, что копептин служит предиктором неблагоприятного прогноза - смерти и повторных госпитализаций у пациентов с ХСН, его уровень в крови возрастает с ФК ХСН, также он продемонстрировал себя как более чувствительный маркер по сравнению с BNP и NT-proBNP (N.G. Morgenthaler et al., 2010; A. Maisel et al., 2011; L. Balling et al., 2012; A. Savic-Radojevic et al., 2017; J. Wang et al., 2017; H.D. Düngen et al., 2018). Еще одним биомаркером со сходной прогностической ценностью в отношении ХСН является адреномедуллин (АМ) - вазоактивный пептид, относящийся к семейству, связанному с геном кальцитонина. У пациентов с ХСН показано повышение содержания АМ в плазме крови пропорционально степени тяжести ХСН, что свидетельствует не только о возможности использования его как важного биохимического маркера оценки тяжести ХСН, но и как ценный прогностический показатель (A. Funke-Kaiser et al., 2014).

1.6 Кардиопротекторное и гипотензивное действие фитопрепаратов

Задачами лечения пациентов с диагностированной ХСН и АГ считаются повышение качества жизни за счет уменьшения выраженности клинической симптоматики и функциональных ограничений и улучшение прогноза (предотвращение или снижение количества госпитализаций,

снижение смертности и частоты сердечно-сосудистых осложнений) пациентов (А.В. Мелехов, Ю.И. Островская, 2017). Несмотря на интенсивный поиск новых методов лечения, количество пациентов с ХСН и АГ в мире неуклонно растет (К.И. Прощаев и др., 2012; Э.Б. Фролова и др., 2013; В. Greenberg, 2016). Патогенетически обоснованное фармакологическое лечение является ведущим подходом в терапии больных с ССЗ. Оно направлено на улучшение клинического состояния, качества жизни, предупреждение госпитализаций и снижение смертности. Но появление новых лекарственных средств, направленных на лечение ХСН и АГ, постоянное совершенствование их фармакокинетики и фармакодинамики даже у лиц, получающих адекватное, регулярное лечение, не всегда обеспечивает эффективность традиционной фармакотерапии (В.П. Михин и др., 2012; Р. Groha, Н. Schunkert, 2015; С.Р. Bramlage et al., 2016). Поэтому поиск новых направлений фармакологической коррекции представляется необходимым в сложившейся ситуации.

Растения были одним из первых природных источников, использованных человечеством для профилактики и лечения заболеваний. По данным ВОЗ лекарственные препараты растительного происхождения являются важнейшим источником адаптационных биологически активных соединений, которые необходимы для лечения и усиления защитных сил организма при различных заболеваниях, причем большая широта терапевтического действия, малая токсичность и возможность длительного курсового применения при хронических заболеваниях, низкий риск возникновения побочных эффектов, комплексное действие, доступность позволяет фитопрепаратам успешно конкурировать с синтетическими (Ф.М. Меликов, 2014; N.R.Farnworth et al., 2001; G.W. De Keulenaer et al., 2017). Эти факторы способствуют увеличению потребления лекарственных средств, полученных из лекарственных растений, как в РФ, так и в Китае, США и Германии (G.D.Antonio et al., 2014; В. Meier, 2014; С. Colalto, 2018; R. Furuuchi et al., 2018).

В медицине и фармацевтике очень высока популярность препаратов природного происхождения. По результатам маркетинговых исследований их доля в общем объеме лекарственных средств составляет около 40% (В.Н. Бубенчикова и др., 2011). Ежегодно расширяется ассортимент лекарственных растительных средств (ЛРС). Фитопрепараты широко применяются во врачебной практике (Е.А. Никитина и др., 2011). Известно, что они участвуют в реакциях окисления и восстановления, а также выступают в роли биологических корректоров, способных регулировать все жизненные функции и биохимические процессы в организме (D. Aekthammarat et al., 2018). В связи с этим роль биологически активных веществ (БАВ) растительного происхождения сводится не только к эффективному лечебному, но и профилактическому действию (М.У. Сергалиева, Н.А. Барскова, 2017) и поиск новых источников биологически активных веществ (БАВ) можно считать перспективным направлением современной фармации.

Растения использовались в качестве лекарственных средств со времен начала цивилизации, и в настоящее время, не смотря на большие успехи в создании химических лекарств, популярность фитотерапии возрастает. При сердечно-сосудистых заболеваниях фитопрепараты применяют у пациентов с застойной сердечной недостаточностью, систолической гипертензией, стенокардией, атеросклерозом, церебральной и венозной недостаточностью, аритмией (N.H. Mashour et al., 1998).

Фитотерапия также внесла большой вклад в развитие коммерческих лекарственных препаратов, производимых сегодня, включая эфедрин из *Ephedra sinica* (ma-huang), дигитоксин из *Digitalis purpurea* (наперстянка), резерпин из раувольфии змеиной. Открытие противоопухолевого препарата паклитаксела из *Taxus brevifolia* (тихоокеанского тиса) (N.H. Mashour, 1998) подчеркивает роль растений как постоянного ресурса для современной медицины (R. Guo et al., 2008; B. Meier, 2014).

Некоторые виды лекарственного растительного сырья содержат сильнодействующие кардиоактивные гликозиды, которые оказывают

положительное инотропное действие на сердце. Препараты дигитоксин и дигоксин использовались для лечения застойной сердечной недостаточности в течение многих десятилетий. Но сердечные гликозиды имеют низкий терапевтический индекс, что усложняет их безопасное применение (X.S. Li et al., 2014). Некоторые распространенные растительные источники сердечных гликозидов включают *Digitalis purpurea* (наперстянка пурпурная), *Adonis microcarpa* (адонис микрокарпа) и *Adonis vernalis* (адонис весенний или горицвет весенний), *Arosynum cannabinum* (кутра коноплевая, или кутра конопляная, кендырь коноплевый), *Asclepias curassavica* (ваточник кюрасавский), *Calotropis procera* (AITON) DRYAND. (калотропис высокий), *Cerbera manghas* L. (цербера мангас), *Erysimum cheiri* L. (желтушник чери), *Convallaria majalis* L. (ландыш майский), *Cryptostegia grandiflora* R.Br. (криптостегия крупноцветная), *Helleborus niger* L. (морозник черный), *Helleborus viridis* L. (морозник зеленый), *Nerium oleander* L. (олеандр обыкновенный), *Plumeria rubra* L. (плюмерия красная), *Selenicereus grandiflorus* L. (селеницереус крупноцветковый), *Strophanthus hispidus* DC. (Строфант щетинистый), *Strophanthus kombe* Oliv. (Строфант комбе) и *Drimia maritima* L. (Морской лук) (X.S. Li, 2014; D.N. Knittel, 2015; D.M. Tian, 2016; R. Fürst, 2017).

Корни *Rauwolfia serpentine* Benth. (раувольфия змеиная) являются индуистским аюрведическим средством с древних времен. В 1931 году в индийской литературе впервые было описано использование корня раувольфии змеиной для лечения гипертонии и психозов; однако применение алкалоидов *Rauwolfia serpentine* Benth в западной медицине началось только с середины 40-х годов XX века. На его основе был создан препарат раунатин, применявшийся для лечения артериальной гипертензии. В исследованиях показано, у пожилых пациентов с артериальной гипертензией, получавших экстракт раувольфии, отмечался гипотензивный и так называемый «транквилизирующий» эффект после нескольких недель или иногда месяцев терапии. Побочные эффекты, как правило, были относительно

незначительными, преходящими и редко требовали прекращения приема препарата (M.B. Lipsett et al., 1954). Стандартизированные препараты целого корня *Rauwolfia serpentine* Benth. и его резерпинового алкалоида официально включены в фармакопею США (B.Rubin et al., 1957; S. Kumar et al., 2016).

Фитопрепараты, как правило, используют в лечении больных с лабильной пограничной артериальной гипертензией I и II стадии. Например, экстракт из травы омелы белой (*Extracti herbae visci albi*) вызывает мягкое гипотензивное действие, применяется при атеросклерозе с артериальной гипертензией и при связанных с ней проявлениях (головокружение, головная боль) (Р.Л. Варданян, 2011). Препараты из цветков боярышника (*Flor. Crataegi*) наряду с кардиотоническим эффектом, оказывают гипотензивное действие, применяются в комплексной терапии АГ (F. Ann Walker, 2002; 2006). Настой и экстракт травы пустырника снижают АД за счет успокаивающего влияния на ЦНС. Также при повышенном АД, атеросклерозе применяют сбор: листья мяты перечной (*Folium Menthae piperitae*), трава полыни горькой (*Herba Artemisiae absinthii*), плоды фенхеля обыкновенного (*Fructus Foeniculi vulgaris*), цветки липы сердцевидной (*Flores Tiliae cordatae*), кора крушины ольховидной (*Cortex Frangulae alni*) (Ф.М. Меликов, 2014). При пограничной гипертензии применяют галеновые препараты, к которым относятся отвар, жидкий экстракт и настойка коры эвкоммии (*Cortex Eucommiae*), настойка шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*), экстракт магнолии жидкий (*Magnolia grandiflora*) (В.А. Куркин, 2015). При АГ I-II стадии широко в комплексной терапии применяют сборы, оказывающие успокаивающее, гипотензивное, спазмолитическое и диуретическое действие: корни шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis*) (), пустырник обыкновенный *Leonurus cardiaca*, трава полынь горькая *Artemisia absinthium* (), трава сушеница топяная (*Gnaphalium uliginosum*), плоды шиповник коричный (*Rosa cinnamomea*), трава почечный чай (*Orthosiphon stamineus*), цветки ромашка аптечная (*Matricaria chamomilla*), плоды и сок рябины черноплодной (*Aronia melanocarpa*) (I. Dib, 2017).

Экстракт листьев гинкго билоба (*Ginkgo biloba*) оказывают кардиопротекторное действие при ишемии и инфаркте миокарда за счет антиоксидантного, антиапоптотического, противовоспалительного эффектов, способности улучшать дыхание и фосфорилирование в митохондриях (N.A. Boghdady, 2013).

Рандомизированные контролируемые исследования у пациентов с сердечной недостаточностью II и III класса продемонстрировали, что сухой экстракт листьев боярышника (*Hawthorn extract*) с цветами может оказывать кардиопротекторное действие (C.J.F. Holubarsch et al., 2018; M. Zorniak et al., 2018). Его эффекты при ХСН, вероятно, связаны с выявленными в более ранних работах способностью увеличивать коронарный кровоток и сердечный выброс, которые обусловлены ингибированием фосфодиэстеразы типа III и IV, антиаритмическим действием (S.Pahlavan et al., 2018), антиоксидантной активностью и противовоспалительными эффектами (S.Z. Wang et al., 2018).

В исследованиях показано, что натуральный полифенол куркумин обладает рядом фармакологических эффектов, включающих эндотелиопротекторные, противовоспалительные, антиоксидантные свойства, которые могут улучшить функцию эндотелия (Santos-Parker, 2017; X.J. Bai et al., 2018).

1.7 Терапевтический потенциал ГЭТПВ

Первоцвет весенний (лекарственный) [*Primula veris* L. или *P. officinalis* (L.) Hill.] является многолетним травянистым растением рода *Primula*.

Первоцвет весенний произрастает на равнинных зонах и в горных областях: на склонах и откосах гор, в лесу, на опушках и в лугах. Ареал распространения первоцвета -европейская часть России, Белоруссия, Украина, западная часть Европы, Средняя Азия, Ближний Восток и Северная Африка. Первоцвет широко распространен на Урале, в Крыму, на Кавказе,

Поволжье и в некоторых районах Западной Сибири (А. Noroozisharaf et al., 2015).



Рисунок 1- Первоцвет весенний лекарственный

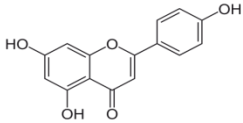
В надземной части первоцвета весеннего содержится комплекс гидрофильных и липофильных биологически активных соединений (Г.М. Латыпова, 2015). Фитопрепарат из травы первоцвета весеннего (*Primula veris* L.) – густой экстракт, ГЭТПВ (как лекарственная форма, с содержанием максимального количества гидрофильных и липофильных соединений) был получен в лабораторных условиях. Приготовление его осуществляли методом дробной мацерации по методике, описанной в Государственной фармакопее (Государственная фармакопея СССР / МЗ СССР. – 11 -е изд., доп., 1987). Выделение биологически активных соединений (БАС) было проведено методами тонкослойной и колоночной хроматографии (Государственная фармакопея Российской Федерации- 13-е изд. 2015).

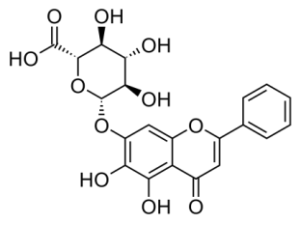
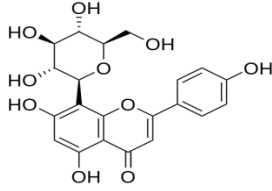
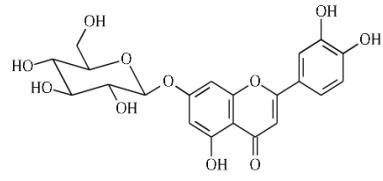
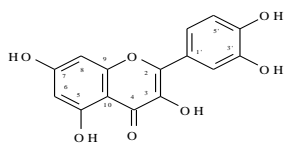
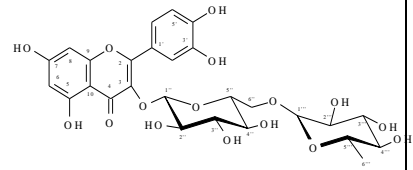
Установлено, что максимальный выход фенольных соединений (качественно и количественно) осуществляется экстракцией сырья раствором спирта этилового 70% (Г.М. Латыпова и др., 2011). С помощью ВЭЖХ в экстрактах из травы первоцвета весеннего обнаружены антоцианы, тритерпеновые сапонины, флавоноиды, гликолизированные производные. Посредством масс-спектропии идентифицированы производные кверцетина: кверцетин-3-О-гентибиозид, кверцетин-3-О-рутинозид, кверцетин-тригексозид, а также 3-О-рутинозид, кемпферол-3-О-галактозид-

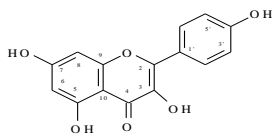
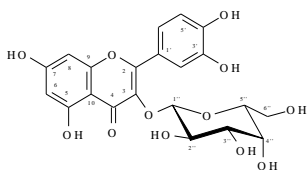
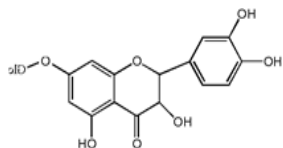
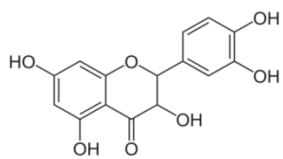
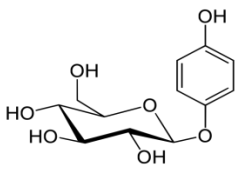
рамнозид-7-О-рамнозид, катехин3-О-диглюкозид-7-О-глюкозид, сапониновая кислота примулы I или первоцветная кислота I.

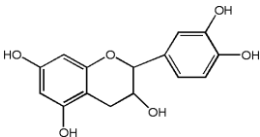
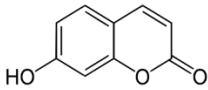
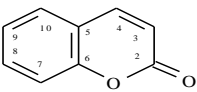
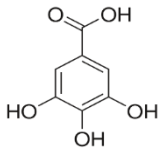
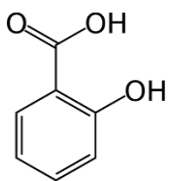
Доказано, что в состав их входят агликоны флавоноидов (апигенин, кверцетин, кемпферол); флавоноидные гликозиды (цинарозид, рутин, гиперозид), а также полиметоксилированные флавоноиды, являющиеся хемотаксономическими маркерами для растений рода первоцвет (8-метокси-флавоон, флавоон, 3',4'-метилден-диокси-5'-метокси-флавоон), дубильные вещества, простые фенолы, кумарины, гидроксикоричные кислоты, фенолокислоты (Г.М. Латыпова и др., 2009; 2015; A. Mueller et al., 2006; E.M. El Morchid et al., 2014; L. Apel et al., 2017) (Таблица 1). Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) выявлено наличие и изучен состав водорастворимых витаминов из травы первоцвета весеннего, среди которых фолиевая кислота, пиридоксина гидрохлорид и тиамин гидрохлорид. При использовании методов хроматографии (тонкослойной

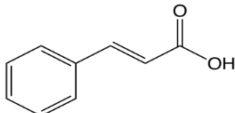
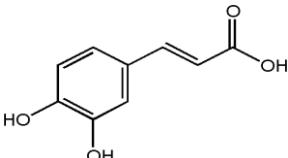
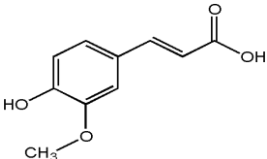
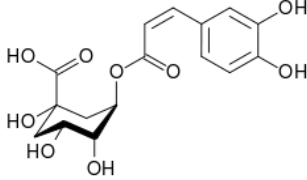
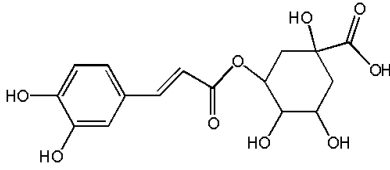
Таблица 1- Соединения фенольной природы, идентифицированные в траве первоцвета весеннего

№ п/п	Наименование вещества	молекулярная масса	Биологические эффекты
1	2	3	4
1. Флавоноиды			
<i>1.1. Флавоны</i>			
1	Апигенин 	$C_{15}H_{10}O_5$, 270,24	биоактивный флавоноид, обладающий противовоспалительными, антиоксидантными и противоопухолевыми свойствами
2	Байкалин	$C_{22}H_{21}O_{11}$,	антиоксидантное действие, активные

		461,10	компоненты вещества способны препятствовать образованию метастазов и укреплять иммунитет, антибактериальное действие, противовоспалительные и жаропонижающие свойства, седативный и кровоостанавливающий эффекты
3	Витексин 	$C_{21}H_{20}O_{10}$, 432,20	Укрепляет сосуды, ускоряет обменные процессы, в том числе и в сердце
4	Цинарозид 	$C_{12}H_{20}O_{11}$, 448,00	гипоазотемическое действие
1.2. Флавонолы			
5	Кверцетин 	$C_{15}H_{10}O_7$, 302,00	Антиоксидантные и противовоспалительные свойства
6	Рутин 	$C_{27}H_{30}O_{16}$, 610,52	Антиоксидантное, антиатеросклеротическое, антиканцерогенное, антибактериальное, сосудорасширяющее, противоаллергенное, противоотечное

			действие
7	<p>Кемпферол</p> 	$C_{15}H_{10}O_6$, 286,23	Противовоспалительное, тонизирующее действие
8	<p>Гиперозид</p> 	$C_{21}H_{20}O_{12}$, 464,00	Кардиотонический, седативный, гипотензивный эффекты
9	<p>Кверцимеритрин</p> 	$C_{21}H_{20}O_{12}$, 464,00	антиоксидантные свойства
1.3. Флаванолы			
10	<p>Дигидрокверцетин, таксифолин</p> 	$C_{15}H_{12}O_7$, 304,25	антиоксидантные, противовоспалительные, обезболивающие, иммунокорректирующие ангио- и гепатопротекторные свойства
2. Простые фенолы			
11	<p>Арбутин</p> 	$C_{12}H_{16}O_7$, 272,26	противомикробное действие

3. Дубильные вещества			
12	Катехин 	$C_{15}H_{14}O_6$, 308,28	иммуностропное, ангиопротекторное, антиоксидантное, антиканцерогенное, противомикробное действие
4. Кумарины			
13	Умбеллиферон 	$C_9H_6O_3$, 162,88	антиканцерогенные, иммуномодулирующие, антиоксидантные, противовоспалительные свойства
14	Кумарин 	$C_9H_6O_2$, 146,89	антикоагулянтное, спазмолитическое, коронарорасширяющее, противоопухолевое, бактериостатическое действие
5. Фенолокислоты			
15	Галловая кислота 	$C_7H_6O_5$, 170,00	Антиоксидантное действие
16	Салициловая кислота 	$C_7H_6O_3$, 138,00	антисептические, жаропонижающие, противовоспалительные свойства
6. Гидроксикоричные кислоты			

17	<p>Коричная кислота</p> 	$C_9H_8O_2$, 148,16	антиоксидантные, цитопротекторные свойства
18	<p>Кофейная кислота</p> 	$C_9H_8O_4$, 184,30	антиканцерогенное, иммуномодулирующее, противовоспалительное действие
19	<p>Феруловая кислота</p> 	$C_{10}H_{10}O_4$, 194,19	противовоспалительное, антиаллергическое, антиагрегантное, противоопухолевое, антиоксическое, гепатопротекторное, кардиопротекторное, антибактериальное, противовирусное действие
20	<p>Хлорогеновая кислота</p> 	$C_{16}H_{18}O_9$, 353,08	гипогликемическое, гипохолестеринемическое, гепатопротекторное, противоопухолевое, антиоксидантное, противовирусное действие
21	<p>Неохлорогеновая кислота</p> 	$C_{16}H_{18}O_9$, 354,00	антиоксидантное, противовоспалительное

(ТСХ), хроматоденситометрии, ВЭЖХ, хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС), исследован состав полифенольных соединений, идентифицировано 28 соединений фенольной природы, которые отнесены к флавоноидам (в том

числе к полиметоксилированным), к кумаринам, к простым фенолам, к дубильным веществам, к антраценпроизводным, к оксикоричным кислотам, к фенолокислотам. Впервые выделено и идентифицировано новое природное вещество 3',4'-метилендиокси-5'- метоксифлавонон (патент № 2532999 от 20.01.15). Методом хромато-масс спектрометрии определен состав липофильных соединений, идентифицировано 11 веществ, среди которых витамин Е, сквален, этиловые эфиры 9-гексадеценовой, гексадекановой, 9,12-октадекадиеновой, 9,12,15-октадекатриеновой кислот, метиловый эфир 9,12,15-октадекатриеновой кислоты определены впервые. Был разработан оптимальный способ получения экстракта и подтверждена идентичность качественного состава сырья и экстракта. Разработаны методические и методологические подходы к стандартизации сырья и фармацевтическая субстанция растительного происхождения (ФСРП) «Густой экстракт из травы первоцвета весеннего» с использованием ТСХ, спектрофотометрии. С целью получения густого экстракта из травы первоцвета весеннего применили классический метод экстрагирования – настаивание. Экстракт травы первоцвета весеннего представляет собой густую вязкую массу темно-зеленого цвета с приятным своеобразным запахом. Подробно был изучен качественный состав флавоноидных соединений полученного густого экстракта. Исследование компонентного состава экстракта показало, что преобладающими флавоноидными соединениями в нем являются рутин, гиперозид, кверцимеритрин, в качестве стандартного образца применяли рутин-стандарт. Количественное содержание суммы флавоноидов определяли спектрофотометрическим методом в пересчете на рутин по разработанной ранее методике Г.М. Латыповой (2007).

Выявленная в ранее проведенных исследованиях эндотелио-, ангиопротекторная, антигипоксанта и антикоагулянтная активности у густого экстракта из травы первоцвета весеннего (*Primula veris* L.) (Д.Ф. Иванова и др., 2013; Г.М. Латыпова, 2014; 2015; Пат. 2342942 Российская Федерация) позволяет предполагать наличие у него влияния на течение ССЗ.

Ангиопротекторная активность ГЭТПВ была изучена с помощью модифицированного метода К.Н. Монаковой. Работа была выполнена на белых крысах линии Вистар. Для снижения резистентности сосудов применяли комбинированный стресс (12 часов голодания, охлаждение при +5°C в металлических контейнерах, 2 часовая иммобилизация в них при +20°C). На 6 день всем животным в вену хвоста вводили р-р трипанового синего, а через 30 секунд на кожу передней брюшной стенки наносили каплю ксилола. Регистрировали время появления петехий и отчётливого их прокрашивания. Полученные результаты показали, что комбинированный стресс у животных контрольной группы приводил к уменьшению времени появления петехий и отчётливого их прокрашивания по сравнению с интактной группой. У интактных и стрессированных крыс, получавших раствор ГЭТПВ, исследуемые показатели появлялись значительно позже, чем в контрольной группе. Таким образом, было выявлено, что раствор ГЭТПВ существенно повышает резистентность сосудов кожи (Д.Ф. Иванова и др., 2013).

Исследование противогипоксических свойств ГЭТПВ проводили в условиях экспериментальной нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Введение экспериментальным животным исследуемого экстракта и препаратов сравнения (предуктал и отвар плодов боярышника) в течение 14 дней достоверно увеличивало время выживания в условиях гипоксии. Продолжительность жизни животных, получавших растворы ГЭТПВ, была в 2,5 и 2,1 раза соответственно выше, чем в группе контроля. Результаты исследований показали, что нормобарическая гипоксия с гиперкапнией сопровождалась увеличением концентрации малонового диальдегида (МДА) в клетках головного мозга экспериментальных животных. В группах животных, получавших перед моделированием гипоксии исследуемые растворы ГЭТПВ и препараты сравнения – предуктал и экстракт из плодов боярышника, уровень МДА был достоверно ниже, чем в контрольной группе животных. Таким образом, проведенные исследования выявили наличие

антигипоксанта действия у исследуемых экстрактов. Все вышеизложенное позволяет предположить наличие у ГЭТПВ кардиоваскулярных свойств.

Ранее подробно изучены лепестки *P. veris* L. и экстракты из них. Водные, водно-спиртовые извлечения, порошок, салат из листьев *P. veris* L. используют в качестве источника каротиноидов, витаминов А, С, Е, при авитаминозах. Во многих странах, в том числе и в России, первоцвет весенний разрешен как пищевое салатное растение, культивируется и реализуется как приправа (ГОСТ 3166-76), а также широко применяется в гомеопатии (Т.Л. Киселева, А.А. Карпеев, 2009).

В России зарегистрированы различные лекарственные препараты, содержащие в составе лекарственное растительное сырье первоцвета весеннего (И.С. Чекман, 1993; В.В. Денискин, 2012). Известны фармакологические свойства препаратов из первоцвета: отхаркивающее, потогонное, мочегонное, спазмолитическое, седативное, противовоспалительное, отмечена высокая антимикробная активность (Т.Л.Киселева и др., 2010).

Изучено и доказано отхаркивающее действие корней первоцвета весеннего, препаратом на их основе является «Гербион сироп первоцвета» (Н.А. Геппе и др., 2015). В составе комбинированного лекарственного средства «Бронхikum эликсир» первоцвет обладает отхаркивающим, бронходилатирующим и противомикробным действием (М.В. Лебедева, 2013). Препарат «Синупрет» проявляет муколитическую, противовоспалительную и противоотечную активность (Н.Л. Кунельская и др., 2012). Лекарственное средство «Бронхипрет ТП» оказывает отхаркивающий, секретолитический, бронхолитический, противовоспалительный эффекты (В.В. Бережной, Н.П. Гляделова, 2010).

Заключение

Таким образом, на основании литературных данных можно сделать вывод, что современная фитотерапия обладает высоким потенциалом для эффективного лечения многих заболеваний сердечно-сосудистой системы, а поиск и разработка средств комплексной профилактики и лечения ССЗ на основе растительного сырья, содержащего богатый комплекс биологически активных соединений, является актуальным направлением.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Экспериментальные животные и исследуемые объекты

Эксперименты проведены на 274 беспородных крысах-самках массой 290-330 г, полученных из питомника «Рапполово» РАН (Ленинградская область). Животные содержались в стандартных условиях вивария согласно правилам GLP при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.396 и 1000.4. -96). Содержание и уход за ними осуществлялся согласно Правилам лабораторной практики в Российской Федерации (Межгосударственный стандарт ГОСТ 33044-2014 и Приказ Минздрава

России от 01.04.2016 N 199н "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики").

Экспериментальное исследование было одобрено Экспертным советом по биомедицинской этике (локальным этическим комитетом) ФГБОУ ВО БГМУ МЗ РФ (протокол № 10-2016 от 27.10.2016 г.).

Были изучены кардиоваскулярные свойства ГЭТПВ *Primula officinalis* (сем. *Primulaceae*).

Изучение гипотензивного и кардиопротекторного эффекта ГЭТПВ проводили в трех дозах: 30 мг/кг, 60 мг/кг, 150 мг/кг, выбранных исходя из определения острой и хронической токсичности. Результаты ранее проведенных исследований показали отсутствие острой токсичности водного раствора ГЭТПВ в дозе 3000 мг/кг при пероральном введении. При введении ГЭТПВ в течение месяца перорально в дозе 300 мг/кг, что составляет 1/10 от максимальной дозы при изучении острой токсичности повреждающего действия на органы и системы крыс не наблюдалось, гибели животных не зафиксировано. Было сделано заключение, что ГЭТПВ относится к IV классу опасности- малотоксичные вещества (ГОСТ 12.1.007.76). (Романова З.Р., 2010).

В качестве препаратов сравнения при изучении антигипертензивного действия ГЭТПВ использовали небиволол (Небилет, «Берлин-хеми Менарини», Германия) в дозе 0,5 мг/кг и раунатин (раунатин, Фарм. компания «Здоровье», Харьков, Украина) в суточной дозе 1 мг/сут. Выбор препаратов сравнения обусловлен тем, что небиволол широко используется для лечения АГ, является препаратом базовой терапии, относящимся к одному из основных пяти классов, входящих к клинические рекомендации и стандарт оказания медицинской помощи по лечению АГ (Рекомендации по лечению больных с артериальной гипертензией, 2018, Приказ Минздрава РФ от 09.11.12 № 708н). первый из β -адреноблокаторов, вазодилатирующее действие которого связано с активацией высвобождения из эндотелия сосудов NO (A.Coats, S.Jain, 2017), учитывая то, что в настоящее время

растет интерес к роли функции эндотелия в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний. Раунатин (действующее вещество алкалоиды раувольфии) был выбран в качестве препарата сравнения исходя из того, что он тоже получен из лекарственного растения. Хотя данный препарат не входит в современные стандарты оказания медицинской помощи и клинически рекомендации, он является единственным лекарственным средством для лечения артериальной гипертензии, полученным из растительного сырья, входящем в реестр лекарственных средств (РЛС) Российской Федерации 2018 г. Ранее данный препарат широко применялся и показал свою высокую эффективность в том числе в рандомизированных контролируемых исследованиях (J.Genest et al., 1955, G.Lemieux et al., 1956; S.D. Shamon, M.I. Perez, 2016).

При изучении кардиопротекторного действия ГЭТПВ при экспериментальной ХСН препаратом сравнения был выбран милдронат (АО «Гриндекс», Латвия) в дозе 50 мг/кг. Установлено его положительное влияние на тяжесть проявлений ХСН: препарат увеличивает сократимость миокарда, фракцию выброса и систолический объем, повышает толерантность к физической нагрузке, улучшает самочувствие и качество жизни больных (А.Л. Верткин и др., 2013; А.С. Сычева и др., 2019; M.D. Tsverava, 2013; M.E. Statsenko et al., 2014; M. Dambrova et al., 2016).

Дозы референтных препаратов небиволола и милдроната взяты из литературных источников (О.В. Смирнова и др., 2002; И.Н. Тюренков и др., 2011), раунатина -из инструкции по применению, где средняя суточная доза для человека 2 мг, а для крыс с учетом межвидового коэффициента $2 \cdot 0,5 = 1$ мг/сут.

2.2 Моделирование экспериментальной ХСН и изучение функциональных резервов сердца

ХСН моделировали введением L-изопротеренола (Sigma-Aldrich, США) в дозе 2,5 мг/кг дважды в сутки внутривентриально в течение 21 дня (I.L.Ennis, 2003, M.Shibata, 2011).

Было сформировано 6 групп крыс-самцов массой 290-330 г: 1) интактные животные (n=25), которым вводили дистиллированную воду в течение всего периода наблюдения (перорально 0,1 мл на 100 г веса) и физ. раствор в дозе 0,1 мл/100 г веса внутривенно; 2) контрольная группа: ХСН+дис.вода - животные (n=40), которым вводили изопротеренол в дозе 2,5 мг/кг и дистиллированную воду в течение всего периода наблюдения (перорально 0,1 мл на 100 г веса) -ХСН (ИЗО); 3) ХСН+ ГЭТПВ 30 мг/кг (n=30) - животные с ХСН, которым вводили ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг; 4) ХСН+ ГЭТПВ 60 мг/кг (n=15), -животные с ХСН, которым вводили ГЭТПВ в дозе 60 мг/кг, 5) ХСН+ ГЭТПВ 150 мг/кг (n=15) - животные с ХСН, которым вводили ГЭТПВ в дозе 150 мг/кг, 6) ХСН+милдронат (n=30) - животные с ХСН, которым вводили милдронат (АО «Гриндекс», Латвия) в дозе 50 мг/кг. ГЭТПВ и милдронат вводили перорально 1 раз в сутки с первого дня эксперимента и в течение последующих 3х недель.

Изучение функциональных резервов сердца проводили с использованием нагрузки объемом - быстрого, в течение 2 сек., внутривенного введения животным физиологического раствора (0,3 мл/на 100 г массы); дозированной активации адренорецепторов сердца введением адреналина (10^{-7} г/мл) 0,1 мл/ 100 г массы животного, максимальной изометрической нагрузки -пережатием восходящей части дуги аорты на 30 сек. Введение адреналина осуществляли через катетер, имплантированный глубоко в правую наружную яремную вену. После периода стабилизации (10 мин) и записи исходных показателей животным последовательно проводились нагрузочные пробы. Перед проведением функциональных тестов осуществляли оперативную подготовку: после перевода животных на искусственную вентиляцию легких в четвертом межреберье производили торакотомию, затем перикардотомию. Через верхушку сердца в левый желудочек вводили катетер, соединенный с датчиком давления (Biopac systems, США). С помощью интерфейсного универсального модуля UIM100С полиграфа MP150 (Biopac systems, США) на базе программы AcqKnowledge 4

регистрировали скорость сокращения ($+dP/dt \max$, мм рт.ст./с) и расслабления ($-dP/dt \max$, мм рт.ст./с) миокарда, левожелудочковое давление (ЛЖД) (мм рт.ст.) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) (уд/мин). Максимальную интенсивность функционирования структур (МИФС) определяли расчетным способом ($(\text{ЛЖД ср} \times \text{ЧСС ср}) / (\text{масса левого желудочка} + 1/3 \text{ межжелудочковой перегородки})$) (мм рт.ст./мг*мин) (И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, 2012).

2.3 Моделирование экспериментальной АГ и измерение АД

Было сформировано 7 групп крыс-самцов, массой 298-339 г: 1-интактные животные (n=21); группа 2 – стрессированные животные (ЭАГ+дис.вода) (n=21); группа 3 – стрессированные животные, получавшие ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг (ЭАГ+ГЭТПВ 30 мг/кг) (n=7); группа 4 – стрессированные животные, получавшие ГЭТПВ в дозе 60 мг/кг (ЭАГ+ГЭТПВ 60 мг/кг) (n=21); группа 5 – стрессированные животные, получавшие ГЭТПВ в дозе 150 мг/кг (ЭАГ+ГЭТПВ 150 мг/кг) (n=7); группа 6 – стрессированные животные, получавшие препарат сравнения небиволол (ЭАГ+небилет) (Небилет, «Берлин-хеми Менарини», Германия) в дозе 0,5 мг/кг (n=21); группа 7 – стрессированные животные, получавшие препарат сравнения раунатин (ЭАГ+раунатин) (раунатин, Фарм. компания «Здоровье», Харьков, Украина) в суточной дозе 1 мг/сут (n=21). ГЭТПВ и препараты сравнения вводили внутривенно один раз в день за 10 мин до стрессирования в расчете 0,1 мл на 100 г веса животного.

Экспериментальную артериальную гипертензию моделировали стрессированием животных и заменой питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида в течение 14-ти дней. Стрессирование проводили в темной комнате, которая оборудована специальной установкой, включающей лампы, электропроводящие подставки под клетки для их вибрации, звуковые колонки. Крыс помещали в изолированные клетки и подвергали воздействию стрессоров: пульсирующий свет, громкий звук и вибрация в течение 60 минут ежедневно 2 недели. Установка позволяет комбинировать

одновременно несколько стрессорных раздражителей или использовать их в моно-режиме. Смена раздражителей осуществлялась по стохастической схеме, чтобы животные не смогли привыкнуть. Измерение систолического артериального давления (САД), диастолического артериального давления (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) проводили до стрессирования, на 7-ой и 14-ый день эксперимента.

Измерение АД осуществляли неинвазивным методом при помощи прибора CODA (Kent Scientific Corporation, USA). Метод измерения АД заключался в помещении бодрствующего животного в пенал-держатель, на хвост животного надевали манжету с интегрированным фотосенсором, в которую нагнетали воздух (на 10-15 мм рт ст выше предполагаемого АД) и затем медленно стравливали, при этом показатели АД и ЧСС автоматически фиксировались прибором.

2.4 Оценка вазодилатирующей функции эндотелия в условиях ЭАГ и ХСН

Вазодилатирующую функцию эндотелия определяли по изменению скорости линейного кровотока (см/сек) в сонной артерии при модификации синтеза эндогенного оксида азота (NO) внутривенным введением анализаторов – ацетилхолина (АЦХ) (0,01 мг/кг, Acros Organics, Sigma, США); нитроглицерина (0,007 мг/кг, МТХ, Москва) и метилового эфира N-нитро-L-аргинина (L-NAME) - блокатора синтеза NO (10 мг/кг, Acros Organics, Sigma, США) с использованием метода высокочастотной ультразвуковой доплерографии (Минимакс - Допплер- К, Санкт-Петербург) (И.Н. Тюренков и др., 2007). Для измерения использовали датчик 25 МГц, который устанавливали непосредственно на сосуд при помощи специального штатива, обеспечивая легкий контакт дистальной части его с поверхностью сосуда.

2.5 Изучение параметров плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза при ЭАГ и ХСН

Степень (%) и скорость (%/мин) агрегации тромбоцитов определяли на двухканальном лазерном анализаторе (модель 220 LA) научно-производственной фирмы «Биола» (г.Москва, Россия) по методу G. V. Vorn в модификации З.А. Габбасова и соавт. (1989) (индуктором агрегации тромбоцитов служил аденозиндифосфат АДФ («Renal», Венгрия) в конечной концентрации 5 мкМ). Кровь для исследования получали из брюшного отдела аорты, в качестве стабилизатора использовали 3,8% раствор цитрата натрия (9:1), центрифугировали в режиме 1000 оборотов 10 минут.

Фактор Виллебранда определяли при ЭАГ на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов "Биола" (наборы "Ренам" для определения фактора Виллебранда).

Метод основан на его способности вызывать агглютинацию тромбоцитов в присутствии антибиотика ристоцетина (ристомидина), которая сохраняется у тромбоцитов после их фиксации формальдегидом, когда полностью утрачивается реакция на другие индукторы агрегации. Затем строится калибровочный график, который представляет собой прямую линию в диапазоне активности фактора Виллебранда от 10 до 100%. По калибровочному графику определяли активность фактора Виллебранда в %.

Для оценки параметров плазменного гемостаза у животных в условиях ЭАГ и ХСН кровь забирали из брюшного отдела аорты, стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Определение показателей гемостаза осуществляли на программируемом оптико-механическом коагулометре - Минилаб 701 (Россия) с использованием наборов для определения протромбинового времени, фибриноген – теста, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) (производство НПО РЕНАМ, Россия).

2.6 Определение маркеров ЭАГ и ХСН в сыворотке крови животных.

Концентрацию С-реактивного белка (СРБ) при ЭАГ определяли в сыворотке крови иммунотурбидиметрическим методом при помощи набора

реагентов СРБ-ВИТАЛ (Россия). СРБ формирует иммунные комплексы с соответствующими антителами, образуется мутная суспензия, оптическая плотность которой измеряется фотометрически (спектрофотометр ПЭ-5400В, Россия) при длине волны 340 нм. Величина оптической плотности зависит от содержания СРБ в пробе. Реакция производилась методом «по конечной точке» с холостой пробой по образцу. Концентрация определялась по нелинейной калибровочной кривой.

Маркеры ХСН (адреномедуллин и копептин) оценивали в плазме крови методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью ИФА-набора Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit for Adrenomedullin (Cloud-Clone Corp., США) и Kit for Copeptin (Cloud-Clone Corp., США) соответственно инструкции. Для получения плазмы кровь из брюшного отдела аорты смешивали с ЭДТА (9:1) и центрифугировали 15 минут при 1000g сразу после забора. Полученную плазму хранили при -20°C и размораживали однократно в день определения маркеров.

В лунки микропланшета отдельно добавляли по 50 мкл пробы и разведений калибратора, после чего вносили по 50 мкл реагента А, встряхивали на шейкере и инкубировали в течение 1 часа при 37°C . После этого лунки трехкратно промывали 350 мкл рабочего раствора буфера, добавляли по 100 мкл реагента В и инкубировали в течение 30 минут при 37°C . Далее пятикратно промывали лунки, как описано выше, после чего вносили по 90 мкл раствора субстрата в каждую лунку и инкубировали в темноте в течение 20 минут при 37°C . Реакцию останавливали добавлением 50 мкл стоп-реагента и измеряли оптическую плотность растворов при 450 нм на микропланшетном фотометре вертикального сканирования (Tecan, Австрия). Концентрацию адреномедуллина и копептина вычисляли по калибровочным графикам и выражали в пг/мл.

2.7 Изучение функционального состояния и оксидантно/антиоксидантной системы митохондрий кардиомиоцитов крыс с экспериментальной ХСН.

На 21 сутки у наркотизированных (хлоралгидрат, 400 мг/кг) животных забирали сердце помещали его в ледяной 0,9% раствор NaCl, тщательно отмывая от крови. После взвешивания удаляли сосуды и жировую ткань и снова промывали сердце физиологическим раствором. Затем орган измельчали ножницами в чашке Петри. Гомогенизацию осуществляли в охлажденном гомогенизаторе Поттера-Эльвейема (стеклянный гомогенизатор с тефлоновым пестиком) с добавлением сахарозной среды выделения (в соотношении 1:5), содержащей 220 мМ маннита, 100 мМ сахарозы, 1мМ ЭДТА, 4мМ KH_2PO_4 , 20мМ HEPES, pH=7,3.

Митохондрии получали стандартным методом дифференциального центрифугирования (I.R.Lanza, K.N. Sreekumaran, 2009). Концентрацию белка оценивали с использованием коммерческого набора «Pierce™ BCA Protein Assay Kit» (Thermo Scientific, США).

Скорость поглощения кислорода митохондриями определяли полярографическим методом с использованием электрода Кларка и анализатора жидкостей Эконикс «Эксперт – 01» (Эконика, Россия). Измерение проводили в среде полярографии (pH 7,4), которая содержала 300 мМ сахарозы, 10 мМ KCl, 5мМ KH_2PO_4 , 1 мМ ЭДТА, 1,2 мМ MgCl, 5мМ трис-HCl pH=7,4. В качестве субстратов окисления были использованы 5 мМ сукцинат и 5мМ малат/5 мМ глутамат. АДФ использовали в концентрации 200 мкМ, ротенон –0,5 мкМ. Перед работой полярографическую среду и субстраты окисления термостатировали 20 мин при 33°C.

Для изучения окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий был использован протокол, описанный Lanza I.R. (2009). В ячейку объемом 1 мл, заполненную полярографической средой, в условиях постоянного перемешивания с использованием магнитной мешалки последовательно добавляли: 100 мкл суспензии митохондрий; 100 мкл субстрата I комплекса дыхательной цепи- 5мМ малата/5 мМ глутамата; 100 мкл 200 мкМ АДФ; 100 мкл субстрата II комплекса дыхательной цепи -5 мМ сукцината; 100 мкл 200 мкМ АДФ; 100 мкл ингибитора первого комплекса-

0,5мкМ ротенона; 100 мкл 200 мкМ АДФ. Скорость поглощения кислорода выражали в нмоль O_2 /мин/мг белка и рассчитывали в следующих метаболических состояниях (по Чансу): V_1 – скорость эндогенного дыхания, V_2 – скорость субстрат-зависимого дыхания, V_3 – скорость потребления кислорода митохондриями при добавлении субстрата окисления и АДФ, то есть состояние окислительного фосфорилирования, V_4 – скорость дыхания митохондрий в присутствии субстрата после расходования внесенного АДФ (состояние дыхательного контроля). Для оценки сопряжения процессов дыхания и фосфорилирования был рассчитан коэффициент дыхательного контроля (отношение V_3/V_4) (M.D.Brand, D.G. Nicholls, 2011).

Интенсивность процессов ПОЛ при экспериментальной ХСН изучали по концентрации первичных (диеновые конъюгаты (ДК)) и вторичных (дикетоны, малоновый диальдегид (МДА)) продуктов в полученных из гомогенатов сердца митохондриальных фракциях.

Определение уровня диеновых конъюгатов и дикетонов производили по модифицированной методике Placer Z. (В.Н. Ушкалова и др., 1993), основанной на спектрофотометрическом определении концентрации ДК и дикетонов в гептан-изопропанольных экстрактах из суспензии митохондрий в ультрафиолетовой области спектра. С этой целью к 2,0 мл смеси гептан-изопропанол добавляли 400 мкл дистиллированной воды и 100 мкл биоматериала. Полученную смесь встряхивали в течение 10 минут, а затем центрифугировали при 1000 об / мин в течение 10 минут. Органическую фазу отбирали и фотометрировали при длине волны 233 нм (ДК) и 278 нм (дикетоны) на спектрофотометре Helios (Великобритания). Полученные результаты были выражены в единицах оптической плотности на 1 мг белка.

Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли по методике Стальной И.Д. (И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977), основанной на образовании его окрашенных комплексов с тиобарбитуровой кислотой. К смеси, содержащей 600 мкл 1,3% раствора ортофосфорной кислоты и 40 мкл раствора сульфата железа (II) добавляли 200 мкл суспензии митохондрий и

смесь тщательно перемешивали. Затем вносили по 200 мкл 0,7% раствора тиобарбитуровой кислоты и нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 минут. После охлаждения под проточной водой полученную смесь центрифугировали 10 минут при 8000 об/мин. После этого отбирали супернатант и фотометрировали при 532 нм на спектрофотометре Helios (Великобритания). Концентрацию МДА рассчитывали с помощью молярного коэффициента экстинкции ($1,56 \cdot 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ М}^{-1}$) и выражали в ммоль / л / мг белка.

Активность каталазы оценивали по методу Королюка М.А. (М.А. Королюк и др., 1988). Данная методика основана на образовании окрашенного комплекса пероксида водорода и соли аммония. Для этого к 1,0 мл 0,03% раствора пероксида водорода в Na-P-буфере (рН 6,8) добавляли 250 мкл суспензии митохондрий и 250 мкл дистиллированной воды. После инкубации 20 минут при 37°C в пробирки вносили по 500 мкл 4,0% раствора молибдата аммония и центрифугировали 20 минут при 8000 об/мин. Оптическую плотность супернатанта определяли на спектрофотометре Helios (Великобритания) при длине волны 410 нм. Расчет производили по формуле, вычисленной по калибровочной кривой. Активность каталазы выражали в мг H_2O_2 / 1 мин / мг белка.

Суммарную активность супероксиддисмутазы определяли по степени торможения реакции окисления кверцетина (В.А. Костюк и др., 1990). К 3,4 мл фосфатного буфера (рН 7,8), который содержит 0,08 мМ этилендиаминтетраацетата и 0,8 мМ тетраметилэтилендиамина, добавляли 100 мкл раствора кверцетина в диметилсульфоксиде (ДМСО) (0,2 мг/мл) и 150 мкл суспензии митохондрий. Измеряли исходную оптическую плотность проб и через 20 минут при $\lambda = 406 \text{ нм}$. Расчет процента торможения производили по формуле:

$$I = 100 - ((A_{\text{оп}}0' - A_{\text{оп}}20') / (A_{\text{контр}}0' - A_{\text{контр}}20')) \times 100,$$

где I – процент ингибирования; $A_{\text{оп}}0'$ и $A_{\text{оп}}20'$ - исходная оптическая плотность опытной пробы и через 20 минут инкубации соответственно;

$A_{\text{контр}0'}$ и $A_{\text{контр}20'}$ - исходная оптическая плотность контрольной пробы и через 20 минут инкубации соответственно.

Активность СОД выражали в условных единицах на 1 мг белка.

Определение активности глутатионпероксидазы производили по методу Моина В.М. (1986), который основан на изменении концентрации восстановленного глутатиона в реакции с 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной кислотой) (ДТНБК). Для этого в две серии пробирок, содержащих по 400 мкл буферного раствора (0,1 N трис-HCl, pH 8,5, содержащего 4,8 mM восстановленного глутатиона), вносили по 50 мкл исследуемого объекта, в контрольной пробе осаждали белок добавлением 100 мкл 20% раствора трихлоруксусной кислоты. Затем добавляли по 50 мкл свежеприготовленного 10 mM раствора гидроперекиси трет-бутила. После 5 минут инкубации при комнатной температуре в пробирки с опытными пробами добавляли по 100 мкл 20%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин. Далее отбирали по 50 мкл надосадочной жидкости и добавляли в нее по 2,0 мл буферного раствора и по 50 мкл реактива Элмана (10 mM раствора ДТНБК в этаноле). Фотометрировали после 5 минут инкубации при комнатной температуре при длине волны 412 нм на спектрофотометре Helios (Великобритания). Активность фермента определяли по разности концентраций GSH в опытной и контрольной пробах. Расчёт активности ГлП проводили в ммоль GSH за 1 мин на 1 мг белка.

2.8 Статистическая обработка

Статистическую обработку проводили с использованием стандартных методов вариационной статистики пакета программ «Statistica 10». Данные были проверены на предмет характера распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. При нормальном распределении для множественных сравнений использовали критерий Ньюмена-Кейлса, а при распределении, отличном от нормального - тест Крускала – Уоллиса с пост-хок тестом Данна, а также непараметрический ранговый U- критерий Манна-Уитни для

сравнительной оценки группы интактных животных и группы негативного контроля. Количественные характеристики исследуемых признаков представлены в виде ($M \pm m$ и $M \pm \sigma$), где M – среднее арифметическое значение, σ – стандартное отклонение, m – стандартная ошибка среднего. Достоверными считались различия, если полученное значение p для данного критерия было ниже критического уровня значимости $\alpha=0,05$.

ГЛАВА 3 ГИПОТЕНЗИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЭТПВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

3.1 Зависимость гипотензивного эффекта от дозы ГЭТПВ при экспериментальной стресс-индуцированной артериальной гипертензии

Проблема артериальной гипертензии не утрачивает свою актуальность по причине широкой распространенности, высокой частоты осложнений, приводящих к ранней инвалидизации больных и смертности (Д.С.Митрохина и др., 2014).

Стрессовые нагрузки являются основной причиной, нарушающей механизмы саморегуляции сердечно-сосудистых функций и ведущей к развитию артериальной гипертензии (А.Х. Каде и др., 2013).

Учитывая вышесказанное, было изучено действие ГЭТПВ при экспериментальной стресс-индуцированной артериальной гипертензии.

У интактных животных систолическое и диастолическое АД статистически значимо не изменялось в течение 21 дня наблюдения (Таблица 2). В группе негативного контроля систолическое АД увеличивалось максимально на 14,8% ($p < 0,05$) на 14-е сутки стрессирования, к 21-м суткам было выше исходных данных на 8%. Диастолическое АД также возрастало максимально на 14 день стрессирования на 14,4%, относительно значений, полученных до моделирования АГ (Таблица 2).

Таблица 2- Влияние ГЭТПВ на систолическое и диастолическое АД животных со стресс-индуцированной ЭАГ ($M \pm \sigma$)

Группы животных	АД, мм рт.ст	Продолжительность ЭАГ			
		Исходные данные	7 день	14 день	21 день
Интактная (n=7)	систолическое	122,0±5,9	124,2±11,0 (1,8%)	120,9±13,7 (-0,9%)	124,1±6,1 (1,7%)
	диастолическое	87,5±11,2	85,1±18,6 (-2,8%)	79,3±12,4 (-9,4%)	84,5±7,3 (-3,5%)
ЭАГ+дис.вода (n=7)	систолическое	123,9±9,9	131,0±9,9 (5,7%)	142,2±6,1* (14,8%)	133,8±21,5 (8,0%)
	диастолическое	91,2±12,1	100,8±12,8 (10,5%)	104,3±5,6* (14,4%)	96,3±21,1 (5,7%)
ЭАГ+ГЭТПВ 30 мг/кг (n=7)	систолическое	121,9±13,1	118,9±11,8 (-2,5%)	111,4±7,4** (-8,6%)	116,4±11,2 (-4,5%)
	диастолическое	87,0±10,3	80,6±11,0 (-7,3%)	77,4±13,6 (-11,0%)	87,1±12,7 (0,1%)
ЭАГ+ГЭТПВ 60 мг/кг (n=7)	систолическое	126,5±7,4	111,7±21,9 (-11,7%)	113,2±5,7** (-10,5%)	112,5±14,5** (-11,1%)
	диастолическое	98,3±6,9	83,5±19,8 (-15,0%)	84,7±11,3** (-13,7%)	81,1±12,9** (-17,5%)
ЭАГ+ГЭТПВ 150 мг/кг (n=7)	систолическое	122,2±10,4	119,6±13,7 (-2,1%)	112,9±8,4** (-7,6%)	131,6±24,7 (7,7%)
	диастолическое	90,6±12,2	84,9±16,7 (-6,3%)	82,4±10,2 (-9,1%)	103,4±18,7 (14,1%)

ЭАГ+небилет 0,5 мг/кг (n=7)	систолическое	123,7±9,7	115,2±14,5 (-6,9%)	99,0±39,2 (-19,9%)**	110,9±7,25** (-10,3%)
	диастолическое	93,6±8,5	80,9±12,8 (-13,5%)	81,2±29,9** (-13,2%)	75,9±13,0** (-18,9%)
ЭАГ+раунатин 1 мг/сут (n=7)	систолическое	121,2±8,0	118,3±8,1 (-2,4%)	113,4±12,5** (-6,4%)	103,6±10,5** (-14,5%)
	диастолическое	91,2±5,2	91,7±6,1 (0,6%)	86,4±17,7** (-5,3%)	81,8±9,2 (-10,2%)

*Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; ** - относительно показателей контрольной группы стрессированных животных $p < 0,05$, прирост показателя в % относительно исходных значений*

ГЭТПВ, вводимый животным внутривенно один раз в сутки до стрессирования в дозе 30 мг/кг, способствовал снижению систолического и диастолического АД на 8,6% ($p < 0,05$) и 11% соответственно на 14 сутки ЭАГ. Увеличение дозы ГЭТПВ до 60 мг/кг вызывало повышение эффекта, АД систолическое и диастолическое уменьшалось на 10,5% ($p < 0,05$) и 13,7% ($p < 0,05$) соответственно на 14 день моделирования ЭАГ, показатели оставались сниженными на 21-день ЭАГ – на 11,1% ($p < 0,05$) и 17,5% ($p < 0,05$) по сравнению с исходными данными (Таблица 2). Однако при дальнейшем увеличении дозы до 150 мг/кг повышения гипотензивной активности не наблюдалось, систолическое АД снижалось на 7,6%, диастолическое - на 9,1%. Кроме того, у этой группы животных к 21 дню наблюдения АД систолическое и диастолическое возрастало на 7,7 и 14,1% соответственно. По гипотензивной активности и продолжительности действия ГЭТПВ в дозе 60 мг/кг был сопоставим с препаратом сравнения небилетом, наступление эффекта происходило раньше, чем после приема эталонного препарата раунатин (Таблица 2).

ЧСС у интактных животных практически не изменялась в течение периода наблюдения, в то время как в группе негативного контроля отмечено увеличение параметра относительно исходных данных, особенно выраженное на 21 день ЭАГ (Таблица 3). ГЭТПВ во всех дозах способствовало снижению ЧСС, наиболее существенно в дозе 60 мг/кг, незначительно уступая небивололу и превосходя по эффективности раунатин (Таблица 3).

Таблица 3- Влияние ГЭТПВ на ЧСС животных со стресс-индуцированной ЭАГ ($M \pm \sigma$)

Группы животных	ЧСС, уд/мин			
	Продолжительность ЭАГ			
	Исходные данные	7 день	14 день	21 день
Интактная (n=7)	320,3±62,5	327,8±42,8 (2,4%)	324,0±58,5 (1,2%)	308,2±42,6 (-3,8%)
ЭАГ+дис.вода (n=7)	322,0±38,8	332,9±42,2 (3,4%)	365,9±11,1* 13,6%	342,7±18,6 (6,4%)
ЭАГ+ГЭТПВ 30 мг/кг (n=7)	321,5±40,4	297,7±41,4 (-7,4%)	285,6±47,6** (-11,2%)	281,4±44,7 (-12,5%)
ЭАГ+ГЭТПВ 60 мг/кг (n=7)	322,9±27,7	302,9±22,0 (-6,2%)	286,2±24,0** (-11,3%)	271,3±26,9 (-16,0%)
ЭАГ+ГЭТПВ 150 мг/кг (n=7)	320,9±29,0	292,3±37,0 (-8,9%)	288,9±47,0** (-10,0%)	304,1±28,4 (-5,2%)
ЭАГ+небилет 0,5 мг/кг (n=7)	319,8±35,2	282,3±44,7 (-11,7%)	260,3±22,4** (-18,6%)	260,9±19,8** (-18,4%)
ЭАГ+раунатин 1 мг/сут (n=7)	323,3±29,4	309,6±18,7 (-4,2%)	308,2±16,5** (-4,7%)	302,6±23,5 (-6,4%)

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; ** - относительно показателей контрольной группы стрессированных животных $p < 0,05$, прирост показателя в % относительно исходных значений

Таким образом, терапия ГЭТПВ приводит к достоверному дозозависимому снижению АД при экспериментальной стресс-индуцированной артериальной гипертензии у крыс, наиболее эффективной дозой ГЭТПВ является 60 мг/кг.

Учитывая отсутствие значимого повышения АД к 21-му дню эксперимента, вероятно связанного с адаптацией животных к стрессорному воздействию, во второй серии эксперимента решено было усилить гипертензивный эффект стресса заменой питьевой воды у крыс на 1,8% раствор натрия хлорида и сократить время эксперимента до 14-ти дней.

3.2 Влияние ГЭТПВ на артериальное давление и ЧСС в условиях комбинированной экспериментальной артериальной гипертензии, вызванной стрессом+ заменой питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида

В условиях комбинированной экспериментальной артериальной гипертензии, вызванной стрессом и заменой питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида, у интактных животных систолическое артериальное давление (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД) на 7-ой и 14-ый день наблюдения статистически значимо не изменялось. В контрольной группе животных на 7-е и 14-е сутки САД была выше исходного на 18,7 и 21,7%, ДАД- на 21,5 и 24,6% соответственно. Это позволяет считать, что у животных развилась ЭАГ.

ГЭТПВ в дозе 60 мг/кг, способствовал снижению систолического АД на 7-е и 14-е сутки эксперимента на 7,7% и 13,6%, диастолического АД- на 9,4% и 13,9% соответственно по сравнению с исходными данными. По степени эффективности ГЭТПВ был сопоставим с препаратами сравнения небивололом и раунатином, которые способствовали снижению САД на 12,6% и 7,9% и ДАД на 15 % и 15% соответственно (Таблица 4).

Таблица 4- Влияние ГЭТПВ на систолическое и диастолическое АД животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию с заменой питьевой воды на 1,8% раствор NaCl ($M \pm \sigma$)

Группы животных		Продолжительность ЭАГ		
		Исходные данные САД/ДАД, мм рт.ст.	7 день САД/ДАД мм рт.ст.	14 день САД/ДАД мм рт.ст.
Интактные животные+ дис. вода (n=14)		120,0±7,9/ 82,0±11,9	117,7±9,35/ 82,9±10,1 (-1,9% /+1,1%)	121,4±7,2/87,9±7,4 (+1,2% /+7,1%)
Животные, подвергшиеся хроническому у стрессорному воздействию с заменой питьевой воды на 1,8% раствор NaCl	+дис.вода (n=14)	117,4±11,4/ 85,5±9,7	139,4±14,4*/103,9±11,5* (+18,7% / +21,5%)	142,9±13,1*/106,5±10,3* (+21,7%) / +24,6%)
	+ГЭТПВ 60 мг/кг (n=14)	127,6±11,5/ 91,4±13,4	117,7±16,2 [#] /82,8±15,0 [#] (-7,7% /-9,4%)	110,2±15,8 [#] / 8,7±14,6 [#] (-13,6% /-13,9%)
	+небилет 0,5 мг/кг (n=14)	128,0±10,7/ 96,0±12,2	113,2±11,2 [#] /81,3±12,3 [#] (-11,6% /-15,3%)	111,9±10,4 [#] /81,6±11,4 [#] (-12,6% /-15,0%)
	+раунатин 1 мг/сут (n=14)	123,1±13,2/ 91,2±9,4	105,6±17,0 [#] /74,4±14,6 [#] (-14,2% /-18,4%)	113,4±12,5 [#] /77,5±9,5 [#] (-7,9% /-15,0%)

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; # - относительно показателей контрольной группы животных, подвергшихся хроническому стрессорному воздействию и замене питьевой воды на 1,8% раствор NaCl при $p < 0,05$; в скобках прирост показателя в % относительно исходных значений

3.3 Действие густого экстракта из травы первоцвета весеннего на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях экспериментальной артериальной гипертензии

Эндотелий — основной компонент гистогематических барьеров, выполняющий множество функций, включающих вазомоторную, обеспечивающую регуляцию сосудистого тонуса за счет продукции вазоконстрикторов и вазодилататоров; гемостатическую, осуществляемую посредством продукции регуляторов системы гемостаза. Дисфункция эндотелия- патологическое состояние, характеризующееся прогрессирующим повреждением клеток эндотелия и нарушением его функций, снижением эндотелийопосредованной дилатации артерий, что является ключевым звеном патогенеза АГ (А.Н. Иванов и др., 2014).

В настоящее время эндотелиальную дисфункцию (ЭД) рассматривают как основной механизм формирования АГ и ее осложнений (в том числе атеросклероза) (D. Aekthammarat, et al., 2018). Эндотелий вовлекается в патологический процесс на наиболее ранних стадиях АГ. Прогностическая значимость ЭД у пациентов с АГ превышает таковую для общепризнанных факторов риска - степени артериальной гипертензии и гипертрофии миокарда левого желудочка.

В этой связи, было изучено влияние ГЭТПВ на вазодилатирующую функцию эндотелия крыс в условиях ЭАГ.

При стимуляции эндотелиальной NOS введением ацетилхолина у животных негативного контроля прирост кровотока в сонной артерии был на 20% меньше, чем у интактных самок, а у крыс, которым вводили ГЭТПВ, небилет и раунатин, степень увеличения кровотока была сопоставима с таковой интактных животных –на 48,1 и 41,5%, 39,8% соответственно. У крыс с ЭАГ неселективный ингибитор NO-синтаз L-NAME также менее выражено –на 23,7%, чем у интактных самок (на 39%), снижал кровоток. У животных, получавших ГЭТПВ, небилет и раунатин, кровоток снижался на

36,4%, 38,1%, 33,9% ($p < 0,05$) соответственно относительно исходных показателей (Таблица 5). Эти данные свидетельствуют о том, что у крыс, которым вводили исследуемые вещества, стимулируемая и базальная продукция NO не отличалась от таковой интактных животных, тогда как у самок негативного контроля отмечается ее выраженное уменьшение. При введении нитроглицерина повышение кровотока происходило у всех групп животных без статистически значимых различий.

Таблица 5- Влияние ГЭТПВ на кровоток в сонной артерии крыс с ЭАГ при введении модификаторов синтеза оксида азота ($M \pm \sigma$)

Анализаторы Группы животных	Линейная скорость кровотока в сонной артерии, см/сек					
	Исход	Ацетилхолин, 0,01 мг/кг	Исход	L-NAME, 10 мг/кг	Исход	Нитроглицерин, 0,007 мг/кг
Интактная + дис. вода (n=7)	10,8±1,1	16,0±1,9 (48,1%)	12,2±1,1	7,4±0,7 (-39,0%)	11,6±0,6	16,2±0,7 (39,6%)
ЭАГ+дис. вода (n=7)	10,5±1,6	13,4±2,3* (27,6%)	10,1±1,6	7,7±1,1* (-23,7%)	10,4±1,8	14,6±2,6 (40,4%)
ЭАГ+ГЭТПВ 60 мг/кг (n=7)	11,1±1,0	16,5±1,5 ^{§@#} (48,6%)	11,8±2,5	7,5±1,8 [§] (-36,4%)	11,2±1,1	15,8±1,4 (41,1%)
ЭАГ+небилет 0,5 мг/кг (n=7)	11,8±3,1	16,7±4,1 [§] (41,5%)	12,6±1,9	7,8±0,9 [§] (-38,1%)	11,5±2,3	16,5±3,4 (43,5%)
ЭАГ+раунатин 1 мг/сут (n=7)	11,3±1,4	15,8±1,9 [§] (39,8%)	12,7±1,5	8,4±1,0 [§] (-33,9%)	11,5±1,5	16,1±2,1 (40,0%)

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$;

§ - относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ + дис. вода при $p < 0,05$; @ - относительно показателей группы животных с ЭАГ+небилет при $p < 0,05$; # - относительно показателей группы животных с ЭАГ+раунатин при $p < 0,05$; в скобках прирост показателя в % относительно исходных значений

3.4 Влияние ГЭТПВ на показатели плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза животных с ЭАГ

У пациентов с артериальной гипертензией совокупность таких факторов, как эндотелиальная дисфункция, гиперактивность тромбоцитов и измененная фибринолитическая активность, нарушает равновесие между гемостазом и фибринолизом и приводит к состоянию гиперкоагуляции, что лежит в основе риска тромботических осложнений (А. Braschi, 2019).

При АГ меняются число тромбоцитов, выработка антикоагулянтов, что в сочетании с замедлением кровотока и изменениями сосудистой стенки создает предпосылки для тромбоза (Н.Х. Резяпова и др., 2010).

Было исследовано влияние ГЭТПВ на агрегацию тромбоцитов и коагуляционные свойства плазмы.

У животных с ЭАГ, вызванной хроническим стрессорным воздействием и заменой питьевой воды на 1,8% раствор NaCl, наблюдался сдвиг показателей плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза в сторону гиперкоагуляции, о чем свидетельствовало повышение скорости и степени агрегации тромбоцитов на 36,6%, и 34,5% соответственно, а также снижение АЧТВ- на 27%, ПТВ - на 19,8% и увеличение уровня фибриногена - на 28% по сравнению с показателями у интактных животных (Рисунок 2, 3, 4, 5, 6).

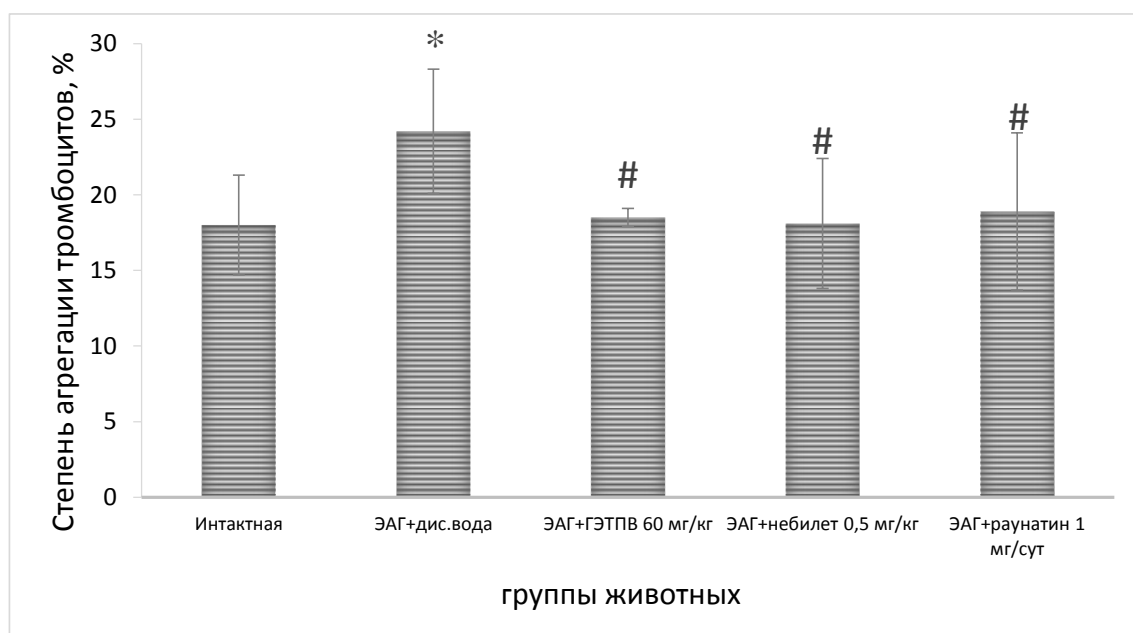


Рисунок 2- Изменение степени агрегации тромбоцитов (%) под влиянием ГЭТПВ у животных с ЭАГ ($M \pm \sigma$).

*Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; # - относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ+ дис.вода при*

$p < 0,05$.

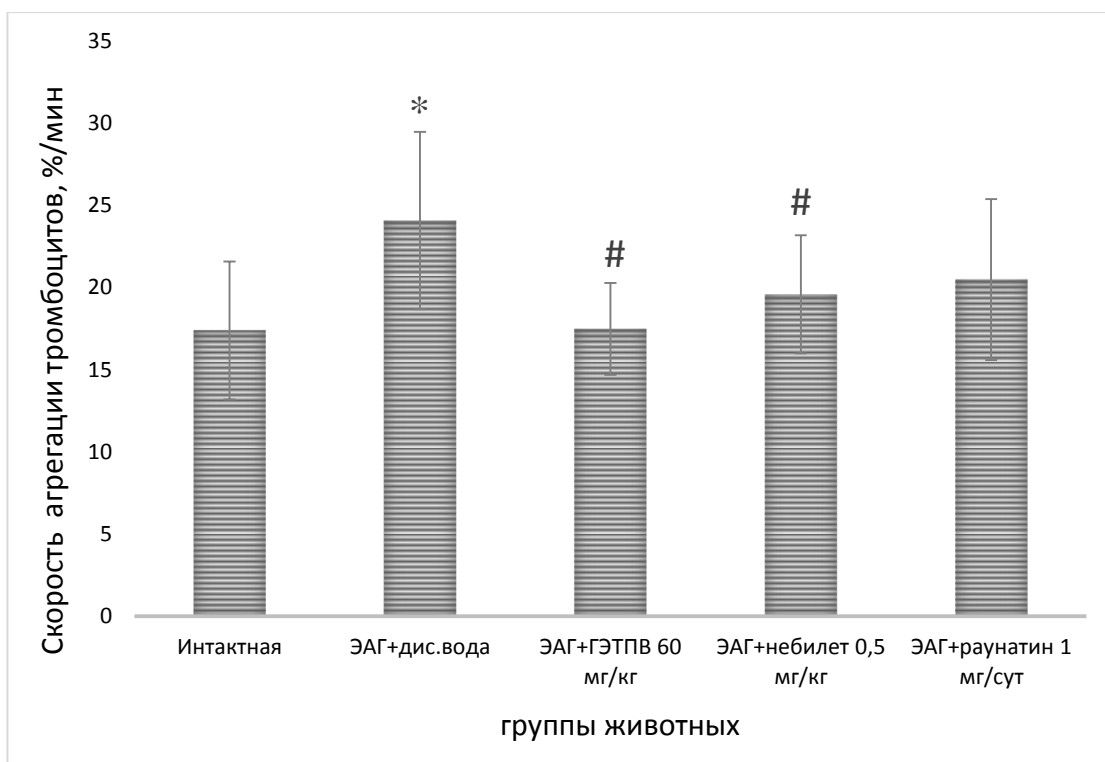


Рисунок 3- Изменение скорости агрегации тромбоцитов (%/мин) под влиянием ГЭТПВ у животных с ЭАГ ($M \pm \sigma$).

*Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; # - относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ+ дис. вода при*

$p < 0,05$

ГЭТПВ способствовало снижению скорости и степени агрегации тромбоцитов на 27,3% и 23,7%, антиагрегантные эффекты его были сопоставимы с таковыми небилета-19,0 и 25,2% и раунатина – 15,0 и 22,1% соответственно. Показатели коагуляционного звена гемостаза также имели тенденцию к снижению у самок, получавших ГЭТПВ, небилет и раунатин, относительно показателей животных контрольной группы, о чем свидетельствовало снижение уровня фибриногена на 9,4%, 18,6%, 12,5% соответственно (Рисунок 6).

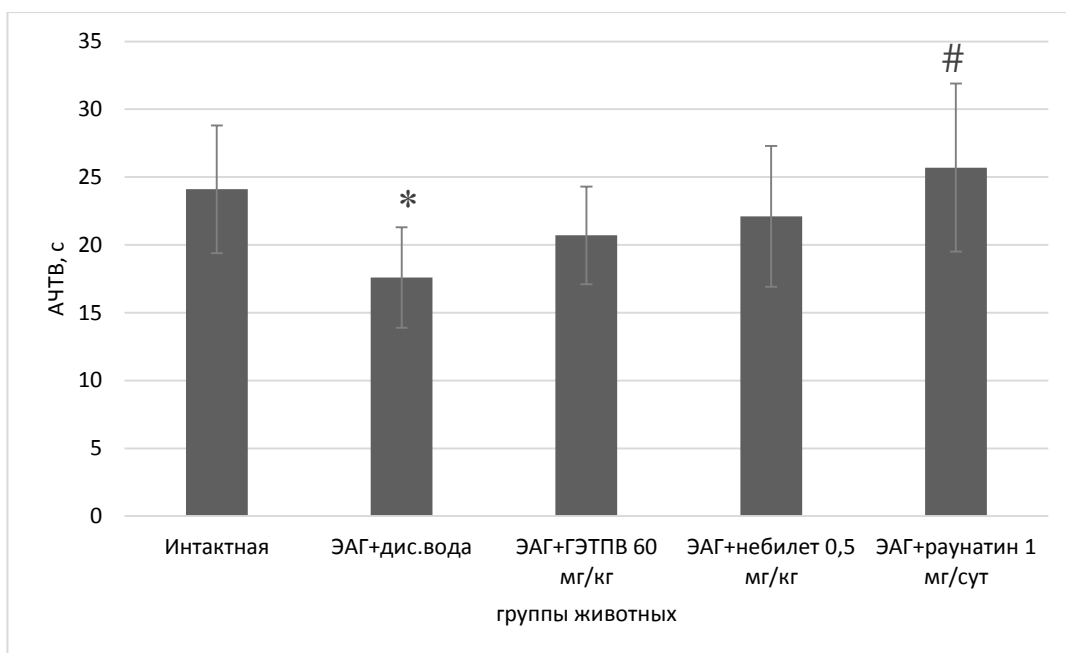


Рисунок 4- Изменение АЧТВ (с) под влиянием ГЭТПВ у животных с ЭАГ ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; # - относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ+ дис.вода при $p < 0,05$.

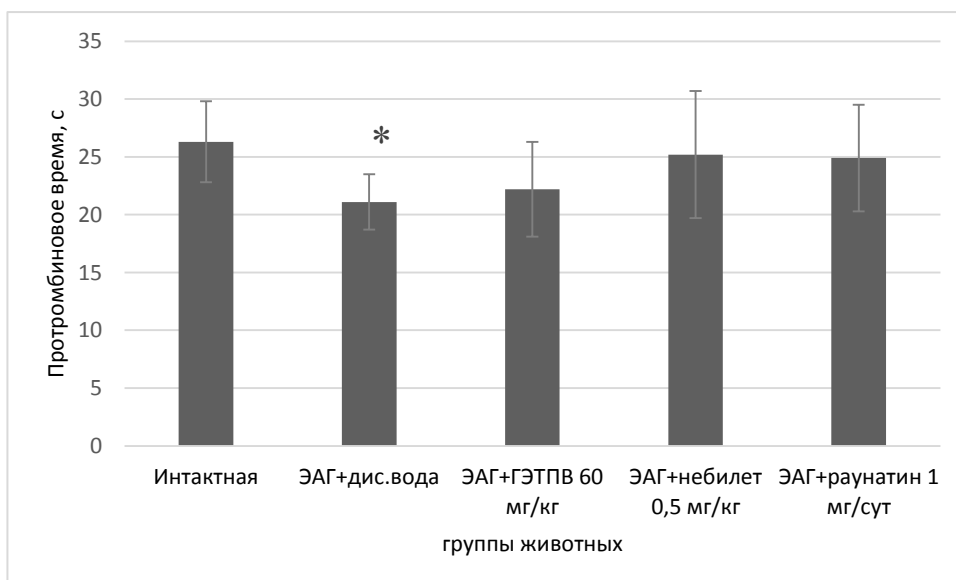


Рисунок 5-Изменение ПТВ (с) под влиянием ГЭТПВ у животных с ЭАГ ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; # - относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ+ дис.вода при

$p < 0,05$

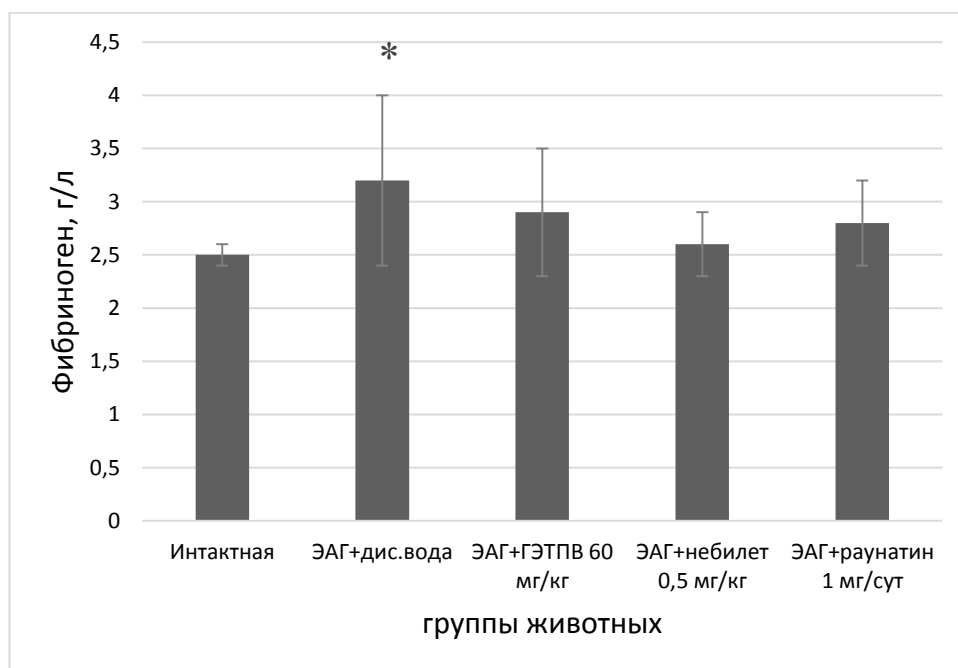


Рисунок 6- Влияние ГЭТПВ на концентрацию фибриногена (г/л) у животных с ЭАГ (M±σ).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$;

- относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ+ дис.вода при

$p < 0,05$.

3.5 Изменение концентрации СРБ и фактора фон Виллебранда у животных с ЭАГ под действием ГЭТПВ

К настоящему времени получены убедительные доказательства значимой роли воспаления в развитии артериальной гипертензии. Поэтому изучение содержания маркера воспаления С-реактивного белка (СРБ) у больных АГ может дать информацию для оценки степени риска прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний. В мировой литературе накоплен огромный материал, на основании которого можно судить о неблагоприятной прогностической роли СРБ в отношении развития и

течения сердечно-сосудистой патологии. Признана роль латентного воспалительного процесса в патологии сосудов, маркером которого является СРБ (Н.В. Вострикова и др., 2009; U. Wenzel et al., 2015). В этой связи, представлялось целесообразным определение этого показателя у животных в условиях экспериментальной артериальной гипертензии

К факторам риска сердечно-сосудистых заболеваний также относят повышенный уровень в крови фактора фон Виллебранда (фВ) - гликопротеина, синтезируемого эндотелиальными клетками и циркулирующего в крови. В плазме крови фВ участвует в образовании тромба, а также обеспечивает адгезию тромбоцитов в месте повреждения эндотелия. Ряд авторов предполагает, что повышение уровня фВ отражает нарушение функции эндотелия, представляет собой независимый модифицируемый фактор риска ССЗ и достоверно коррелирует с тяжестью АГ (Н.Х. Резяпова и др., 2010; М.Х. Апостолова и др., 2018).

Выявлено, что уровень СРБ у животных контрольной группы был выше, чем у интактных на 52,8%, что может свидетельствовать о развитии ЭАГ. ГЭТПВ не влиял на этот показатель, а у крыс, которым вводили небилет и раунатин концентрация СРБ была статистически значимо выше, чем в контрольной группе на 50 % и 32,3% соответственно (Рисунок 7).

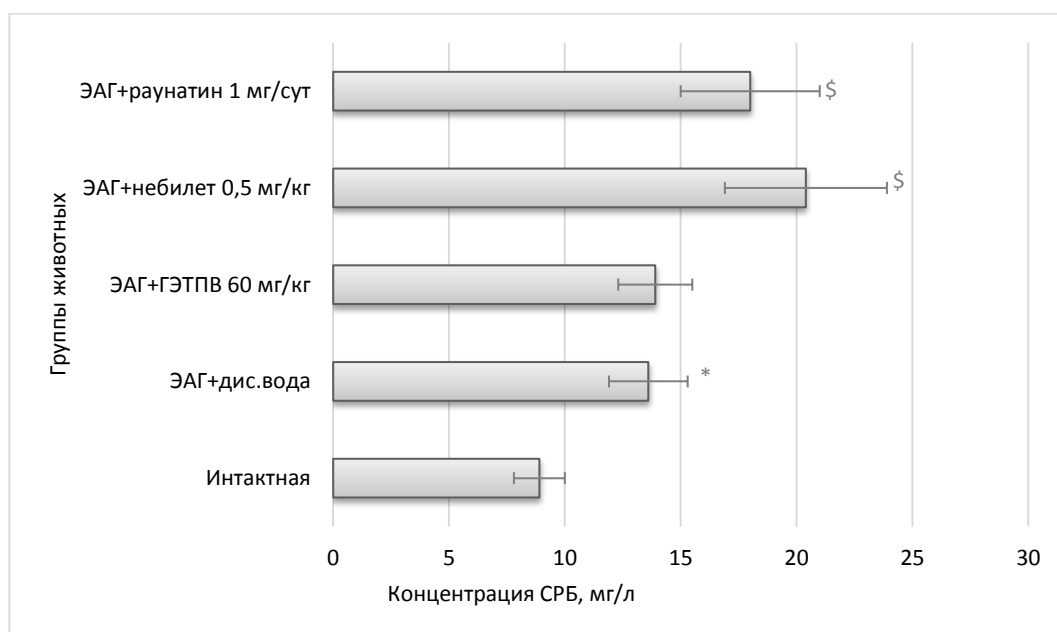


Рисунок 7- Изменение концентрации СРБ (мг/л) у животных с ЭАГ ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; \$ - относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ+дис. вода при

$p < 0,05$.

Концентрация фВ у животных с ЭАГ была практически в 2 раза выше, чем у интактных. У крыс с ЭАГ, которым вводили ГЭТПВ, показатель был ниже на 54 %, чем в контрольной группе, небилет практически не влиял, а раунатин способствовал уменьшению концентрации фВ сопоставимо с ГЭТПВ -на 50,7% (Рисунок 8).

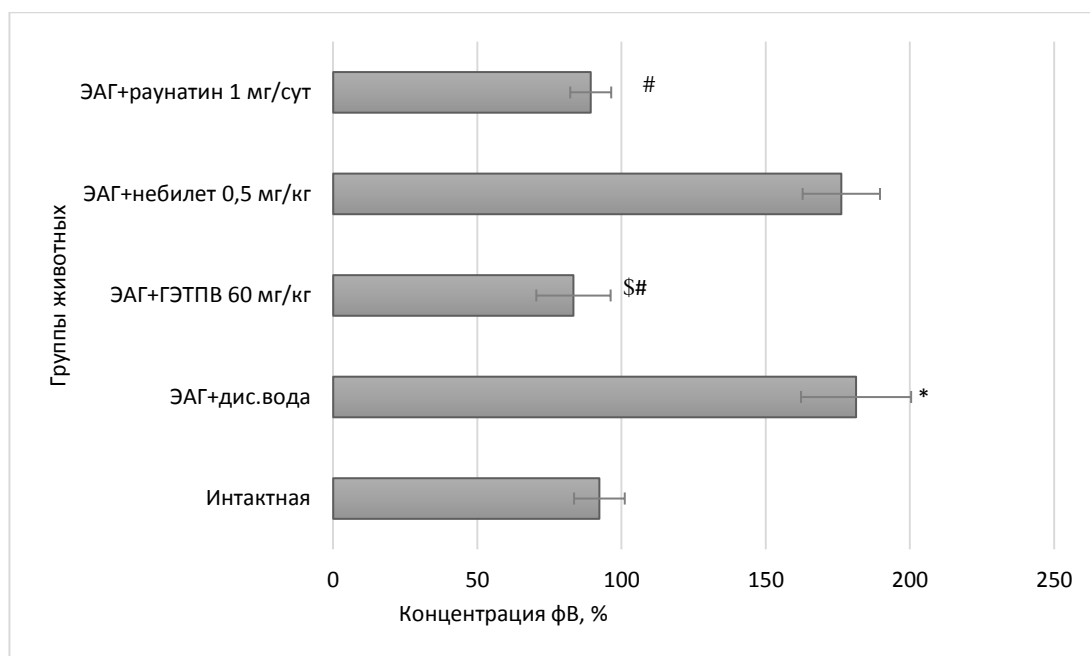


Рисунок 8- Изменение концентрации фактора Виллебранда (%) у животных с ЭАГ ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; \$ - относительно показателей контрольной группы животных с ЭАГ+дис. вода при

$p < 0,05$; # - относительно показателей группы животных с ЭАГ+небилет при $p < 0,05$.

Заключение

Таким образом, длительное стрессорное воздействие и замена питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида способствует развитию ЭАГ у экспериментальных животных, о чем свидетельствует более значительный

прирост значений САД и ДАД. Проведенные исследования показали наличие эндотелиальной дисфункции у крыс с ЭАГ, характеризующейся нарушением вазорегулирующей функции эндотелия, повышением уровня СРБ, фВ в плазме крови, повышением скорости и степени агрегации тромбоцитов.

ГЭТПВ предупреждал повышение АД у животных в условиях ЭАГ, а также обладал выраженным эндотелиопротекторным действием по сравнению с небилетом и раунатином. Препарат улучшал вазодилатирующую функцию эндотелия, на что указывает более высокий прирост кровотока в сонной артерии на введение анализаторов ацетилхолина и L-NAME по сравнению с контрольной группой животных. ГЭТПВ проявлял антитромботические свойства в условиях ЭАГ, о чем свидетельствует снижение скорости и степени агрегации тромбоцитов, концентрации фибриногена и фВ, превосходя по эффективности препараты сравнения.

ГЛАВА 4 КАРДИОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЭТПВ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХСН

Данные американских и европейских эпидемиологических исследований однозначно свидетельствуют о том, что хроническая сердечная недостаточность (ХСН) до сих пор остается одним из самых распространенных, быстро прогрессирующих и прогностически неблагоприятных состояний системы органов кровообращения (E. Tanai, S. Frantz, 2015; A.B.Gevaert et al., 2017; M.J. Pearson, N.A. Smart, 2017; E. Benjamin et al., 2018; G. Di Gesaro et al., 2019; R. Orzechowski, et. al., 2019).

По данным эпидемиологических исследований в Российской Федерации заболеваемость ХСН насчитывает 8,9 % взрослого населения (Ю.В. Лискова, 2015). Причем, распространенность ХСН увеличивается с возрастом, от 1 % людей в возрастной группе от 50 до 59 лет, и до 10 % тех, кому более 80 лет. По статистике Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), среди общей смертности в России смертность от ССЗ составляет 57%. Несмотря на все достижения современной медицины, ХСН является тяжелой ношей не только для российского, но и для мирового здравоохранения (М.Е. Стаценко и др., 2010; К.И. Прощаев и др., 2012; Э.Б. Фролова и др., 2013; S.Kishimoto et al., 2017).

Рассматривая патогенез сердечной недостаточности, можно отметить, что ХСН является синдромом, развивающимся в результате различных заболеваний сердечно-сосудистой системы, которые приводят к снижению насосной функции сердца, дисбалансу между гемодинамической потребностью организма и возможностями сердца, гиперактивацией нейрогормональных систем (Э.Б. Фролова и др., 2013; E. Benjamin et al., 2018).

Общепризнанными механизмами формирования ХСН в настоящее время считаются нарушение сократительной функции и ремоделирование миокарда. При этом сердечная мышца теряет способность в различной степени выталкивать кровь в сосудистое русло в систолу и/или адекватно наполняться в диастолу (Т.М. Мазитов и др., 2013; О.М. Драпкина, Л.О. Палаткина, 2014).

В соответствии с современной моделью патогенеза, в появлении и прогрессировании симптомов ХСН важное место имеет активация симпатической нервной системы, которая, наряду с повышением активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, приводит к задержке ионов натрия и воды, к вазоконстрикции и снижению сократительной функции ЛЖ сердца (О.М. Драпкина, Л.О. Палаткина, 2014; D.M. Johnson et al., 2019).

Развитие ХСН происходит по единым патофизиологическим законам независимо от этиологического фактора (Т.М. Мазитов, 2013).

Таким образом, представлялось целесообразным изучить влияние ГЭТПВ на инотропную функцию сердца в условиях экспериментальной ХСН.

4.1 Зависимость кардиопротекторного действия ГЭТПВ от дозы при экспериментальной ХСН

За время эксперимента погибло 35 животных из 155. В интактной группе гибели не наблюдалось. В контрольной группе погибло 8 животных; в группе, получавшей ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг - 3, ГЭТПВ в дозе 60 мг/кг – 6, в группе ХСН+ГЭТПВ 150 мг/кг-8. Наибольшая гибель наблюдалась в группе, которая получала милдронат- 10 животных (Таблица 9).

Таблица 9- Гибель животных в ходе экспериментальной ХСН

Группы	Количество животных
--------	---------------------

	исходное	в конце эксперимента	погибшие
Интактные животные	25	25	0
ХСН+дис. вода	40	32	8
ХСН+ГЭТПВ 30 мг/кг	30	27	3
ХСН+ГЭТПВ 60 мг/кг	15	9	6
ХСН+ГЭТПВ 150 мг/кг	15	7	8
ХСН+милдронат 50 мг/кг	30	20	10

Выявлено, что в интактной группе животных при проведении нагрузки объемом максимальный прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС на 10 с составил 45%; 36,3%; 15,5%, 46,8% что было значительно выше аналогичных показателей контрольной группы, где прирост равнялся 9,4% ($p<0,05$); 15,9%; 3,8% ($p<0,05$), 17,4% соответственно (Таблица 10).

У животных опытных групп, получавших исследуемые вещества в дозе 30 мг/кг, 60 мг/кг и 150 мг/кг и милдронат при увеличении преднагрузки исследуемые показатели были равны 37,6% ($p<0,05$), 44,8% ($p<0,05$), 49,5% ($p<0,05$), 58,8% ($p<0,05$); 32,8%, 37,0%, 42,2% и 41,5% ($p<0,05$); 11,3% ($p<0,05$), 10,9%, 21,8% ($p<0,05$) и 10,6% ($p<0,05$); 35,4%, 70%, 54,4% и 69,6% соответственно, что существенно превосходило данные, полученные в контрольной группе (Таблица 10).

У животных с ХСН прирост скоростей сокращения и расслабления (+dP/dt max и - dP/dt max), ЛЖД, ЧСС на 10 сек в ответ на введение адреналина составляли: 31,4% ($p<0,05$), 64% ($p<0,05$), 55%, что было ниже показателей интактной группы, где они равнялись 144,1%, 180,4%, 79,2%

соответственно. Прирост ЧСС в ответ на введение адреналина в контрольной группе составил 92,5%, что выше аналогичного показателя интактной группы-58,3% (Таблица 11).

В группе животных с ХСН, получавших ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг, 150 мг/кг при проведении пробы на адренореактивность прирост скорости сокращения миокарда на 10 с был достоверно выше таковой у животных с ХСН контрольной группы и составлял 160,5% ($p<0,05$), 79,2% ($p<0,05$), причем в дозе 30 мг/кг выше по сравнению с препаратом милдронат, а в дозе 150 мг/кг сопоставимо с препаратом сравнения, значение которого равнялось 76,4% (Таблица 3). В группе животных с ХСН, получавших ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг при проведении пробы на адренореактивность прирост скорости расслабления на 10 с миокарда был достоверно выше таковой у животных с ХСН контрольной группы и составила 129,1% и 64,0%, сопоставимо с препаратом сравнения милдронат. В группе животных с ХСН, получавших ГЭТПВ в дозе 150 мг/кг, в ответ на введение адреналина прирост скорости расслабления миокарда был 76,7%, что выше такового у животных контрольной группы, однако разница была статистически недостоверна (Таблица 11). Прирост ЧСС при данной нагрузке в опытных группах, получавших ГЭТПВ и милдронат составил 104,7%, 149,1%, 125% и 165,3% соответственно, что выше данного показателя контрольной группы-92,5%. (Таблица 11).

У животных с ХСН, получавших ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг, при проведении пробы на адренореактивность прирост ЛЖД на 10 с был незначимо выше такового у самцов контрольной группы: 57,2% против 55 %, что сопоставимо с препаратом сравнения милдронатом, в котором данный показатель составил 66,2%. В группах с ХСН, получавших ГЭТПВ в дозах 60 и 150 мг/кг прирост был ниже, чем в контрольной группе животных- 34,7 и 51,9% соответственно (Таблица 11).

В контрольной группе животных при окклюзии восходящей части дуги аорты прирост $+dP/dt$ max и $-dP/dt$ max на 5 и 30 с составил 43,8%/-16,6%

($p < 0,05$) и 17,3/-13,1% ($p < 0,05$), ЛЖД- 66,4%/17% ($p < 0,05$) и максимальной интенсивности функционирования структур (МИФС)-139,4/34,7 ($p < 0,05$), что было ниже такового у интактной группы животных, где прирост скорости сокращения и расслабления миокарда на 5 и 30 с был равен 115%/22,9%, 126,2/36,6%, ЛЖД- 112,4%/63,4%, МИФС- 204,9%/84,1%. Прирост ЧСС в контрольной группе животных с ХСН на 5 с составил 50,5%, что практически равнялось аналогичному показателю в интактной группе- 43,9%, а на 30 с данный показатель составил 78,2%, что выше такового в интактной группе - 18% (Таблица 12,13).

При максимальной изометрической нагрузке прирост скорости сокращения миокарда на 5 с во всех опытных группах: животные, получавшие ГЭТПВ в дозах 30 мг/кг-102,8% ($p < 0,05$), 60 мг/кг-54,8%, 150 мг/кг-36,9%, милдронат 69,1% превышал аналогичные показатели в контрольной группе животных с ХСН- 43,8% (Таблица 12).

При максимальной изометрической нагрузке прирост скорости расслабления миокарда на 5 с во всех опытных группах-48,7%, 78,4% ($p < 0,05$), 79,8% ($p < 0,05$), 83,6% ($p < 0,05$) превышал аналогичные показатели в контрольной группе животных с ХСН- 17,3%. При максимальной изометрической нагрузке прирост скорости расслабления миокарда на 30 с во всех опытных группах и группе сравнения -19,8%, 15,7%, 51% и 41,4% превышал аналогичные показатели в контрольной группе животных: -13,1%, однако статистически достоверно только в группах животных, получавших ГЭТПВ в дозе 150 мг/кг и милдронат (Таблица 12).

При максимальной изометрической нагрузке значения ЛЖД на 5 с опытных групп (получавших ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг и 60 мг/кг, милдронат): 76,1%, 84,5%, 99,9% превышают таковые значения в группе ХСН-66,4%, однако статистически достоверно только у милдроната; а на 30 с достоверно выше у животных из вышеперечисленных групп: 53,9%, 46,3%, 47% относительно контрольной группы- 17% (Таблица 12). Прирост ЧСС на 5 с выше и на 30 с ниже при окклюзии восходящей части дуги аорты выше во

всех опытных группах по сравнению с таковым показателем группы с ХСН (Таблица 12).

Прирост МИФС на 5 с выше во всех опытных группах – 159,9%, 199,8%, 186,2%, 234% по отношению к контрольной-139,4%, однако статистически достоверно лишь в группах, получавших ГЭТПВ в дозе 60 мг/кг и милдронат. При этом показатели группы ГЭТПВ 60 мг/кг превосходят препарат сравнения (Таблица 13). Прирост МИФС на 30 с выше во всех группах: 74,8%, 103,5%, 63%, 102,4% по сравнению с контрольной-34,7%, но наиболее выражено у животных, получавших ГЭТПВ в дозах 30 мг/кг и 60 мг/кг и милдронат (Таблица 13). Самый высокий прирост был зарегистрирован в группе, получавшей ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг. Его значения превосходят таковые у милдроната в 2 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, после моделирования изопротереноловой сердечной недостаточности в течение 21 дня у животных значительно снижаются ино- и хронотропные резервы сердца, о чем можно судить по более низкому по сравнению с интактной группой приросту скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС при проведении функциональных тестов- нагрузки объемом, пробы на адренореактивность, и максимальной изометрической нагрузки, а также по более низким значениям МИФС.

Установлено, что при пероральном введении ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг оказывает кардиопротекторное действие, сопоставимое с препаратом сравнения и по некоторым показателями превосходящее его, о чем можно судить по высокому приросту скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и самому низкому проценту гибели животных в группе.

Таблица 10- Влияние исследуемых веществ на показатели сократимости миокарда, ЛЖД и ЧСС животных с экспериментальной ХСН при нагрузке объемом (M±m)

Группы животных	Нагрузка объемом, в скобках прирост показателя в %							
	+dP/dt max, мм рт.ст./с		-dP/dt max, мм рт.ст./с		ЛЖД, мм рт. ст.		ЧСС, уд/мин	
	Исходные данные	10 с	Исходные данные	10 с	Исходные данные	10 с	Исходные данные	10 с
Интактная группа (n=10)	5878,5±637,2	8313,8±872,4 (45,8±15,1)	-4506,0±616,7	-5868,3±625,0 (36,3±10,0)	113,6±9	128,5±6,3 (15,5±5,0)	301,4±26,9	416,6±13,3 (46,8±14,6)
ХСН+дис. вода (n=15)	5242,9±785,0	5673,1±869,5 (9,4±4,4)*	-3525,8±665,1	-3945,7±601,3 (15,9±5,9)	97,3±8,9	100,5±9,0 (3,8±2,7)*	260,2±21,6	298,3±25,7 (17,4±11,3)
ХСН +ГЭТПВ 30 мг/кг (n=14)	3937,2±718,7	5458,7±949,5 (37,6±10,9)**	-2878,2±671,3	-3692,2±711,3 (32,8±10,3)	94,9±10,9	103,6±10,5 (11,3±3,2)	221,1±30,3	282,6±32,4 (35,4±5,4)**
ХСН +ГЭТПВ 60 мг/кг (n=9)	5630,9±612,1	7874,4±597,4 (44,84±7,8)**	-4167,8±394,2	-5466,1±386,0 (37,0±13,5)	109,3±6,5	119,2±5,4 (10,9±6,9)	204,9±40,5	290,9±31,0 (70,0±25,2)
ХСН +ГЭТПВ 150 мг/кг (n=7)	4299,49±673,6	6552,54± 1005,9 (49,5±12,9)**	-3191,3±431,5	-4650,9±639,3 (42,2±6,6)	86,9±7,1	104,9±8,1 (21,8±5,9)**	226,2±36,5	292,6±27,6 (54,4±32,2)
ХСН +милдронат 50 мг/кг (n=9)	3258,6± 234,2	5079,5±508,2 (58,8±16,9)**	-2467,2±271,0	-3379,2±410,3 (41,5±17,4)**	93,2±5,2	103,2±6,8 (10,6±3,9)	186,4±35,3	275,7±33,1 (69,6±23,2)**

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$;

** - относительно показателей контрольной группы животных с изопроterenоловой ХСН $p < 0,05$, в скобках прирост показателя в

%

Таблица 11- Влияние исследуемых веществ на показатели сократимости миокарда, ЛЖД и ЧСС животных с экспериментальной ХСН при нагрузке адреналином ($M \pm m$)

Группы животных	Проба на адренореактивность, в скобках прирост показателя в %							
	+dP/dt max мм рт. ст./с		-dP/dt max мм рт. ст./с		ЛЖД, мм рт. ст.		ЧСС, уд/мин	
	Исходные данные	10 с	Исходные данные	10 с	Исходные данные	10 с	Исходные данные	10 с
Интактная группа (n=10)	5086,7±628,8	12654,0±974,5 (144,1±27,3)	-3380,4±375,6	-8973,5±650,2 (180,4±24,8)	114,9±8,8	197,4±10,2 (79,2±17,1)	358,9±24,2	548,0±21,9 (58,3±13,1)
ХСН+дис. вода (n=15)	4912,9±709,7	6229,7±801,6 (31,4±8,4)*	-3484,7±647,1	-5040,3±716,3 (64,0±23,3)*	94,4±8,7	142±11,6 (55,0±13)	261,0±19,0	489,5±39,2 (92,5±18,5)
ХСН + ГЭТПВ 30 мг/кг (n=14)	3963,4±781,3	9 324,9 ±905,3 (160,5±38,4)**	-3517,0±762,3	-6690,3±1221,4 (129,1±63,3)**	91,3±12,4	136,7±15,9 (57,2±16,6)	263,6±29,4	501,8±26,1 (104,7±21,1)
ХСН +ГЭТПВ 60 мг/кг (n=9)	5871,7±712,2	9147,0±913,0 (59,3±7,6)	-4408,5±331,2	-6212,5±643,3 (42,3±13,9)	110,7±5,4	149,7±14,7 (34,7±11,0)	199,3±20,7	469,9±30,2 (149,1±25,7)
ХСН +ГЭТПВ 150 мг/кг (n=7)	4959,3±675,2	8098,0±534,7 (79,2±18,5)**	-3656,89±556,2	-6164,6±890,0 (76,7±12,5)	101,8±11,4	149,8±12,2 (51,9±8,6)	237,3±39,4	495,7±61,7 (126±31,3)
ХСН +милдронат 50 мг/кг (n=9)	3320,6±569,7	6453,1±848,5 (76,4±15,0)**	-2296,8±475,1	-4637,9±800,0 (127,5±28,1)**	89,1±7,5	145,6±10,1 (66,2±11,2)	222,5±31,5	517,4±17,9 (165,3±34,2)**

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$;

** - относительно показателей контрольной группы животных с изопроterenоловой ХСН $p < 0,05$, в скобках прирост показателя в

%

Таблица 12- Влияние исследуемых веществ на показатели сократимости миокарда, ЛЖД и ЧСС животных с экспериментальной ХСН при максимальной изометрической нагрузке ($M \pm m$)

Группы животных	Максимальная изометрическая нагрузка, в скобках прирост показателя в %											
	+dP/dt max мм рт. ст./с			-dP/dt max мм рт. ст./с			ЛЖД, мм рт. ст.			ЧСС, уд/мин		
	Исходные данные	5 с	30 с	Исходные данные	5с	30 с	Исходные данные	5 с	30 с	Исходные данные	5с	30 с
Интактная группа (n=10)	6089,6±925,6	11720,7±1234,4 (115,0±25,4)	6212,1±964,7 (22,9±8,7)	-4367,2±686,5	-6871±924,4 (126,2±20,8)	-3846,8±385,6 (36,6±6,2)	99,8±4,3	209,5±7,0 (112,4±11,3)	162,3±5,8 (63,4±4,2)	315,7±27,1	449,8±27,4 (43,9±7,0)	352,9±31,7 (18,0±15,6)
ХСН+дис. вода (n=15)	3928,6±618,9	5441,5±730,5 (43,8±12,9)*	3034,3±431,8 (-16,6±10,8)*	-2920,3±437,8	-3418,7±412,1 (17,3±7,5)*	-2381,7±398,9 (-13,1±9,5)*	86,0±5,9	140,6±9,4 (66,4 ±10,7) *	98,0±6,6 (17,0±9,7)*	310,7±27,1	549,8±27,4 (50,5±16,1)	619,6±379,9 (78,2±83,2)
ХСН+ ГЭПТВ 30 мг/кг (n=14)	3348,7±784,4	5789,7±1155,4 (102,8±24,3)**	3596,8±802,2 (17,4±5,4)**	-2583,8±668,1	-3535,5±725,7 (48,7±11,4)	-2666,1±550,8 (19,8±7,3)	102,7±7,0	178,8±1,8 (76,1±8,5)	156,5±9,0 (53,9±5,3)**	334,7±30,9	483,1±24,2 (50,7±12,4)	375,9±33,5 (15,5±10,6)
ХСН +ГЭПТВ 60 мг/кг (n=9)	5394,6±575,9	8195,3±711,1 (54,8±5,70)	6247,4±818,1 (14,6±6,4)	-3772,8±456,4	-6073,9±494,4 (76,5±26,6)	-4014,4±280,1 (16,9±15,4)	98,3±5,0	179±6,3 (84,5±9,2)	144,1±9,9 (46,3±5,7)**	301,9±28,5	477,3±30,3 (67,4±19,6)	387,5±22,6 (36,9±17,4)
ХСН +ГЭПТВ 150 мг/кг (n=7)	3860,9±745,1	5772,2±962,3 (68,0±20,9)	4090,2±600,4 (20,2±11,9)	-2648,1±441,2	-4211,4±690,9 (88,3±34,8)	-3216,6±435,5 (41,7±19,8)	101,9±4,7	163,4±4,9 (58,2±8,2)	117,1±6,4 (16,4±7,7)	271,9±27,6	460,6±21,7 (79±15,4)	338,8±40,8 (31,7±21,4)
ХСН +милдронат 50 мг/кг (n=9)	3000,2±337,3	5117,5±561,1 (69,1±10,5)	3796,4±466,6 (27,2±9,4)**	-2216,2±182,4	-3946,9±409 (83,6±23,3)**	-3123±376,5 (41,4±17,4)**	86,3±5,1	168,4±4,6 (99,9±12,4)**	125,5±8,2 (47,0±9,2)**	308,4±35,6	482,9±21,9 (78,5±27,9)	397,6±18,5 (43,5±19,4)

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$;

*** - относительно показателей контрольной группы животных с изопроterenоловой ХСН $p < 0,05$, в скобках прирост показателя в %*

Таблица 13- Влияние исследуемых веществ на МИФС у животных с экспериментальной ХСН (M±m)

Группы животных	МИФС, мм рт.ст./мг*мин		
	исход	5 сек	30 сек
Инттакт (n=10)	63,9±4,6	191,2±13,9 (204,9±20,1)	122,2±11,3 (84,1±9,9)
ХСН+дис. вода (n=15)	34,5±3,5	82,4±8,6 (139,4±12,4)*	44,9±3,7 (34,7±10,6)*
ХСН+ГЭТПВ 30 мг/кг (n=14)	66,3±19,0	168,3±46,3 (159,9±15,4)	115,5±32,9 (74,8±13,2)**
ХСН+ГЭТПВ 60 мг/кг (n=9)	32,6±3,1	96,1±9,4 (199,8±21,8)**	62,4±5,7 (103,5±31,4)**
ХСН+ГЭТПВ 150 мг/кг (n=7)	33,0±3,6	90,2±5,1 (186,2±21,3)	47,8±6,6 (63,0±35,8)
ХСН+милдронат 50 мг/кг (n=9)	29,1±2,8	95,6±5,7 (234,0±30,5)**	58,0±4,7 (102,4±18,7)**

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; ** - относительно показателей контрольной группы животных с изопроterenоловой ХСН $p < 0,05$, в скобках прирост показателя в %

4.2 Влияние густого экстракта из травы первоцвета весеннего на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях экспериментальной хронической сердечной недостаточности

Одним из основных аспектов в патогенезе ХСН является эндотелиальная дисфункция (ЭД), которая определяет выраженность клинических симптомов у больных (Е.А. Полунина и др., 2014; А.В. Gevaert et al., 2017; S.J.Shah et al., 2018).

Доказана самостоятельная роль эндотелия в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Эндотелий непрерывно вырабатывает огромное количество важнейших биологически активных веществ: вазодилататоры и антиагреганты (оксид азота (NO), брадикинин, простагландин, простагландин E2, эндотелиальный фактор гиперполяризации), вазоконстрикторы и проагреганты (эндотелин-1 (ЭТ-1), ангиотензин II (АТ II), серотонин, простагландин F2 α , лейкотриены C4, D4, тромбоксан A2), гепарин, активаторы плазминогена, факторы роста. Эндотелий также обладает

сосудодвигательной, антитромбоцитарной, антикоагулянтной, тромболитической, противовоспалительной, антиоксидантной и антипролиферативной активностью. Ему принадлежит важная роль в развитии атеросклероза, ремоделировании сосудов, ангиогенезе (J. Maupoint et al., 2016; M. Zhong et al., 2016; S. Kishimoto et al., 2017).

Эндотелий регулирует тонус сосудов, рост клеток и взаимодействие между тромбоцитами и стенкой сосуда. Он также синтезирует факторы роста и тромбо-регуляторные молекулы и реагирует на физические и химические сигналы. Термин «эндотелиальная дисфункция» включает в себя нарушение взаимодействия между эндотелием, тромбоцитами и регуляторными молекулами (D. Konukoglu, H. Uzun, 2017).

Учитывая вышеизложенное, представлялось целесообразным изучить действие ГЭТПВ на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях экспериментальной ХСН.

У интактных животных к концу эксперимента систолическое и диастолическое АД статистически значимо не изменялось. В контрольной группе САД и ДАД на 21-е сутки эксперимента уменьшилось относительно значений, полученных до моделирования ХСН на 13,6% и 6,3% соответственно ($p < 0,05$) (Рисунок 9). Это согласуется с литературными данными (снижение сердечного выброса при ХСН приводит к снижению АД) (Национальные рекомендации ВНОК, 2010). У крыс, получавших ГЭТПВ и препарат сравнения милдронат в течение моделирования ХСН систолическое и диастолическое АД статистически значимо не менялось.

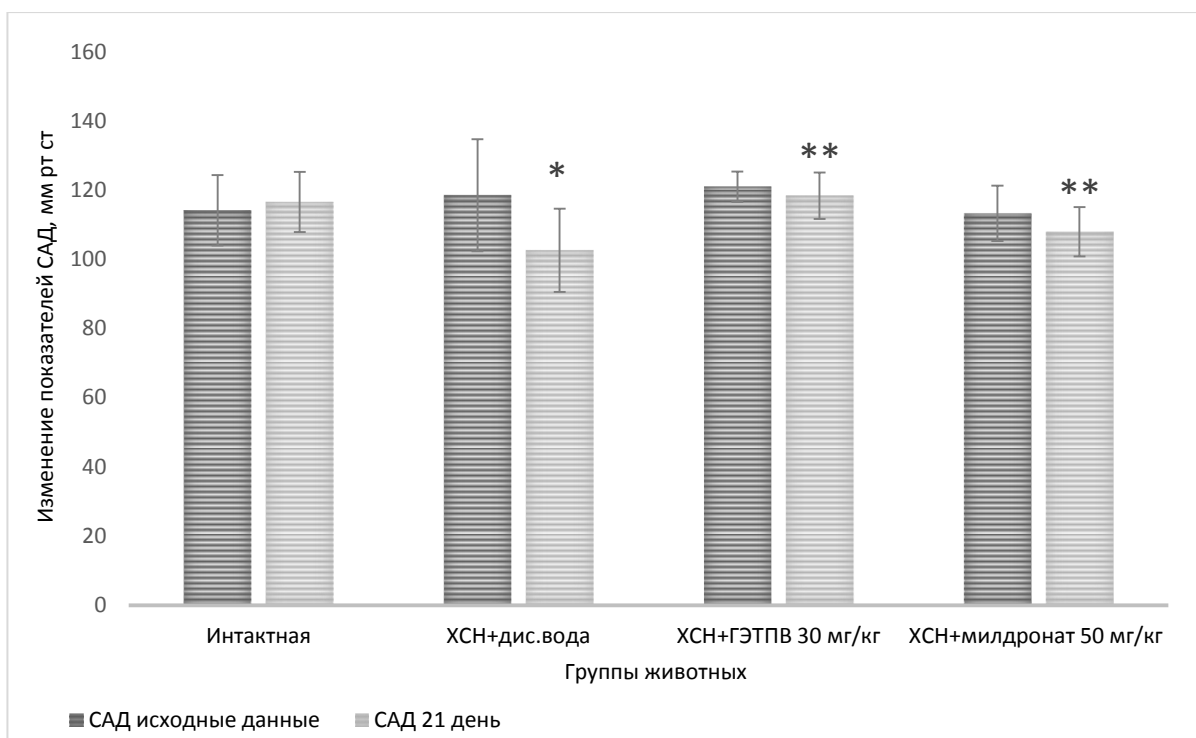


Рисунок 9- Влияние ГЭТПВ на систолическое АД животных с экспериментальной ХСН ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; ** - относительно показателей контрольной группы животных с ХСН при $p < 0,05$.

При изучении вазодилатирующей функции эндотелия выявлено, что в интактной группе животных ацетилхолин способствовал увеличению скорости кровотока в сонной артерии на 45,2%, а неселективный ингибитор NO- синтаз L-NAME снижал этот показатель на 46,8% по сравнению с исходными показателями (Рисунок 10, 11).

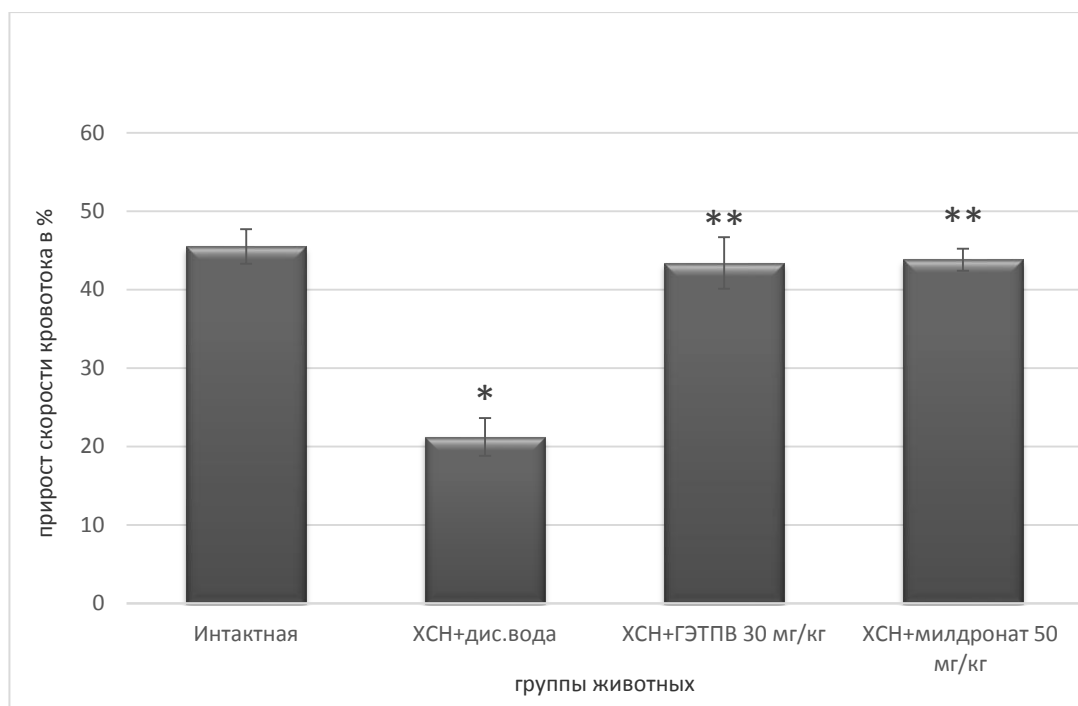


Рисунок 10- Влияние ГЭТПВ на скорость кровотока в сонной артерии при введении ацетилхолина ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; ** - относительно показателей контрольной группы животных с ХСН при $p < 0,05$.

В группе животных с ХСН ацетилхолин повышал скорость кровотока на 21,1% ($p < 0,05$), а L-NAME уменьшал на 27,5% ($p < 0,05$) по сравнению с исходными данными, что было существенно ниже, чем у интактных крыс. У крыс, получавших ГЭТПВ и милдронат, реакция на ацетилхолин и L-NAME была более выражена, чем у животных контрольной группы: кровотока в первом случае повышался на 43,4% ($p < 0,05$) и 43,8% ($p < 0,05$) соответственно, во втором-снижался на 40,4% ($p < 0,05$) и 39,5% (Рисунок 10, 11).

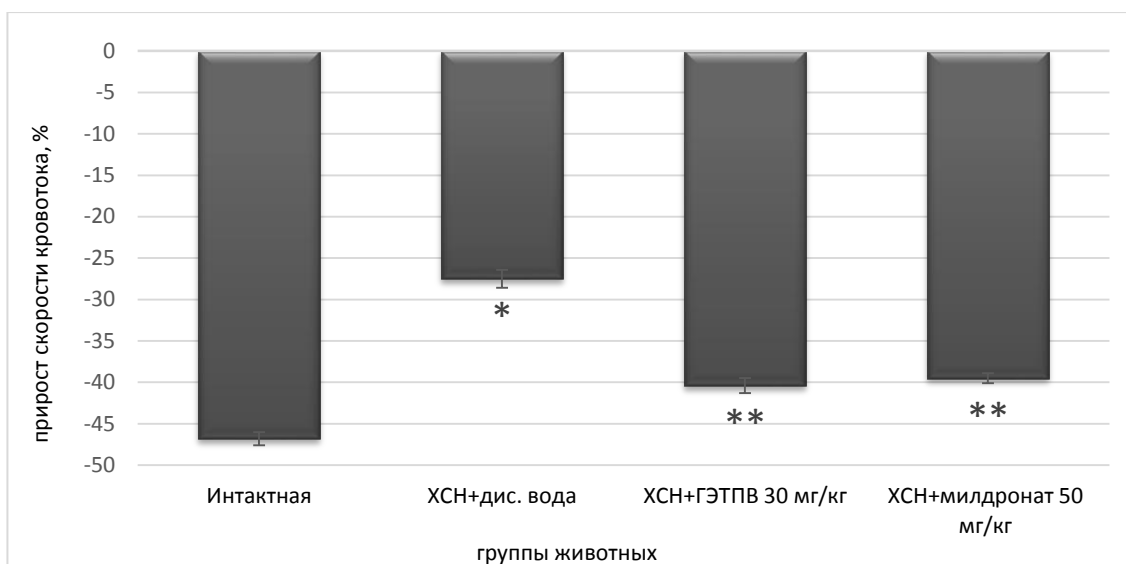


Рисунок 11- Влияние ГЭТПВ на скорость кровотока в сонной артерии при введении L-NAME ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; ** - относительно показателей контрольной группы животных с XCH при $p < 0,05$.

При введении нитроглицерина повышение кровотока отмечалось у всех групп животных в одинаковой степени без статистически значимых различий (Рисунок 12).

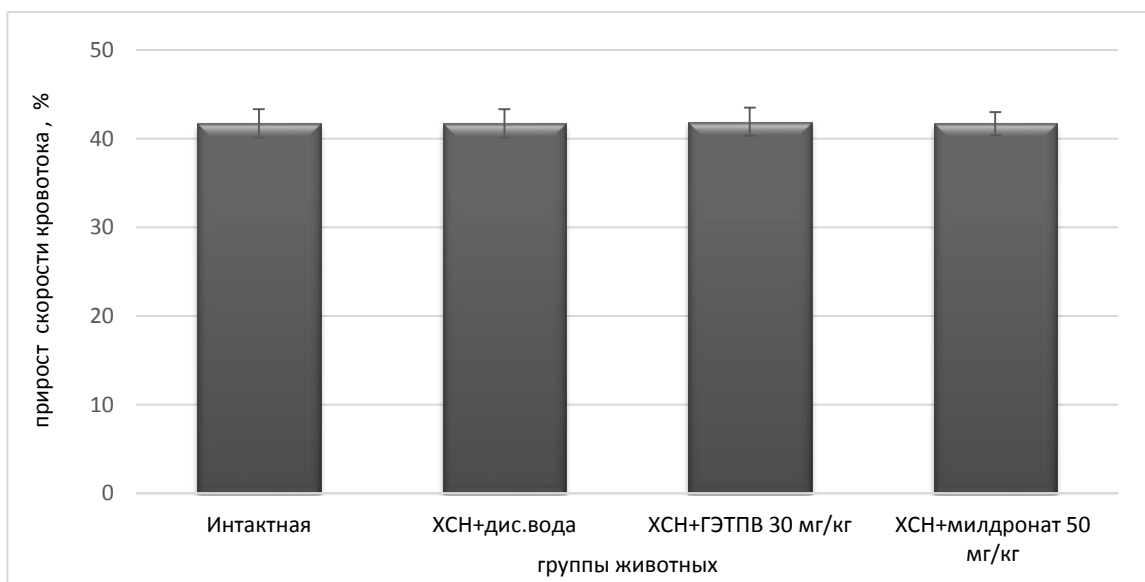


Рисунок 12- Влияние ГЭТПВ на скорость кровотока в сонной артерии при введении нитроглицерина ($M \pm \sigma$).

4.3 Антиагрегантная и антикоагулянтная активность ГЭТПВ в условиях экспериментальной хронической сердечной недостаточности

Доказано, что маркерами эндотелиальной дисфункции являются снижение эндотелийзависимой вазодилатации сосудов, изменение содержания в крови таких регуляторных пептидов как фактор Виллебранда, фибриноген (У.К. Камилова, Ч.А. Абдуллаева, 2014; L.R. Meirelles et al., 2011; C. Passino et al., 2015; G.L. Xiong et al., 2015; S. Kishimoto et al., 2017; G.A. Ribeiro-Samora et al., 2017), а также активация системы гемостаза. При этом происходит инициация развития прокоагулянтных изменений при ХСН; повышается адгезия и агрегация тромбоцитов (Е.А. Полунина и др., 2014; J.C. Schefold et al., 2012).

фВ -гликопротеин, регулирующий адгезию к поврежденным тканям сосудов и агрегацию тромбоцитов (B. Popovic et al., 2019). Он синтезируется в эндотелиальных клетках и мегакариоцитах (В.М. Шмелева и др., 2009). Его повышенное содержание характеризует острофазовую реакцию, а также состояния, сопровождающиеся повреждением сосудистой стенки, по этой причине он широко используется в клинической практике как маркер эндотелиальной дисфункции (М.Е. Kleber et al., 2015; G.L. Xiong et al., 2015).

В физиологических условиях тромбогенные и атромбогенные субстанции находятся в равновесном состоянии.

Вследствие структурно-функциональных нарушений эндотелия происходит повышение агрегационной способности тромбоцитов (K.I. Cho et al., 2014; A. Haynes et al., 2017). Этому способствуют также гемодинамические факторы: дилатированные сердечные камеры, нарушения глобальной и регионарной сократимости, фибрилляция предсердий (J. Medamana et al., 2017; N. Glezeva et al., 2016).

Таким образом, проявлениями ЭД являются: активация системы гемостаза, которая инициирует развитие прокоагулянтных изменений при ХСН; повышенная адгезия и агрегация тромбоцитов (В.М. Шмелева и др.,

2009; И.А. Сукманова и др., 2010; Г.Н. Танатарова, 2010; Е.А. Полунина и др., 2014; J.C. Schefold et al., 2012).

Учитывая вышеизложенное, были изучено влияние на показатели в системе гемостаза и антиагрегантная активность ГЭТПВ.

Показано, что скорость и степень агрегации тромбоцитов выше у крыс с ХСН по сравнению с интактными животными (29,6%/мин против 20,6 %/мин и 27,3% против 18,8% соответственно) ($p < 0,05$). У животных с ХСН, которым вводили ГЭТПВ и милдронат, исследуемые показатели были достоверно ниже в сравнении с контрольной группой и равнялись 20%/мин и 19% и 23,2%/мин и 21,9% соответственно ($p < 0,05$) (Рисунок 13).

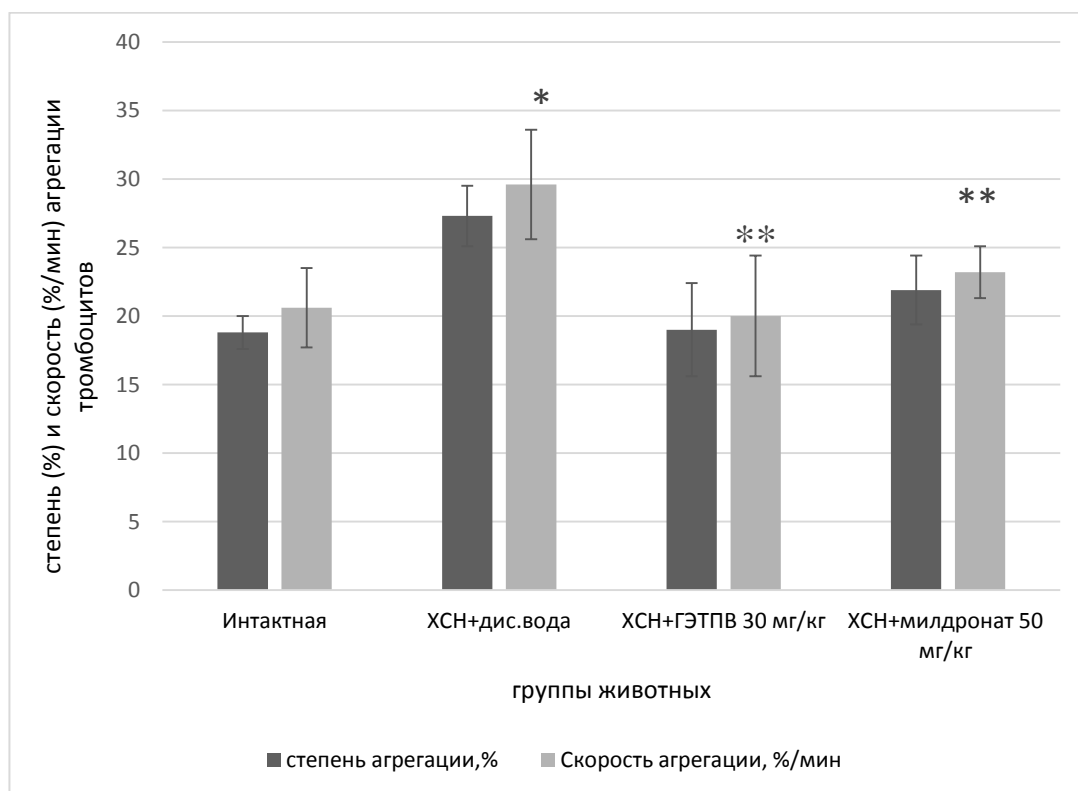


Рисунок 13- Влияние ГЭТПВ на степень (%) и скорость (%/мин) агрегации тромбоцитов в условиях экспериментальной ХСН ($M \pm \sigma$).

Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$; ** - относительно показателей контрольной группы животных с ХСН при $p < 0,05$.

Выявлено, что уровень фВ был на 91,1% ($p < 0,05$) выше у животных с ХСН контрольной группы по сравнению с интактными. У самок с ХСН, получавших ГЭТПВ и милдронат показатель был ниже на 31,4% ($p < 0,05$) и 21,2% ($p < 0,05$) соответственно по отношению к контрольной группе крыс с ХСН, при этом ГЭТПВ превосходил по эффективности препарат сравнения (Рисунок 14).

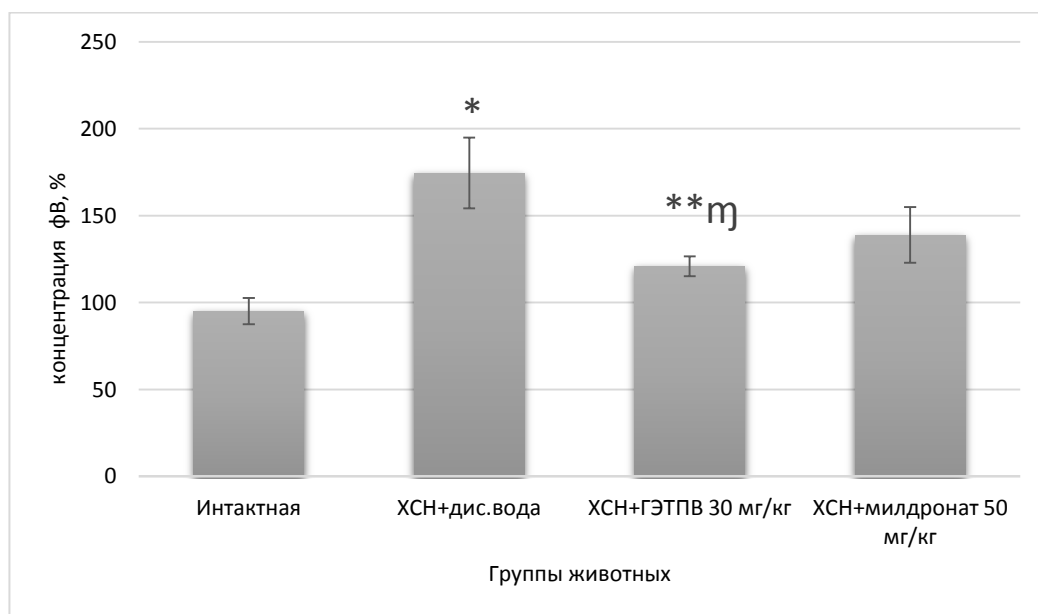


Рисунок 14- Влияние ГЭТПВ и милдроната на концентрацию фактора Виллебранда при экспериментальной ХСН ($M \pm \sigma$).

*Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных; ** - контрольной группы животных с ХСН; η - группы животных с ХСН+милдронат, $p < 0,05$.*

4.4 Изменение концентрации адреномедуллина и копептина у животных с экспериментальной ХСН под действием ГЭТПВ

Практически все классические симптомы и клинические признаки часто встречаются и при других заболеваниях или нивелируются на фоне лечения, что делает их низкоспецифичными для диагностики ХСН. В этой связи, значительные усилия ученых направлены на поиск и изучение новых, чувствительных биомаркеров для ранней диагностики ХСН и стратификации риска. Важным аспектом является и тот факт, что использование

дорогостоящих трудоемких методов исследования для постановки диагноза ХСН не всегда может быть информативным у пациентов с сохраненной фракцией выброса и отсутствием четкой клинической картины ХСН.

В Рекомендациях по диагностике и лечению ХСН (ОССН, РКО и РНМОТ, четвертый пересмотр, 2013) натрийуретические пептиды представляют собой золотой стандарт среди сердечных биомаркеров. Но несмотря на это, содержание натрийуретических гормонов может повышаться с возрастом и снижаться у лиц с ожирением или гипотиреозом, что делает их менее специфичными. По данным современных рандомизированных клинических испытаний имеются противоречивые результаты: мозговой натрийуритический пептид (BNP) и предшественник мозгового натрийуретического гормона (NT-proBNP) не могут служить маркерами ремоделирования сердца и фиброза, хотя и коррелируют с уровнями металлопротеиназ крови (Н. Yogasundaram et al., 2018).

Таким образом, для определения более точного прогноза у больных с ХСН целесообразно как сочетанное использование известных биомаркеров, так и поиск новых. Одними из таких маркеров могут служить копептин и адреномедуллин.

Копептин является С-концевым фрагментом (из 39 аминокислот) предшественника аргининавазопрессина. В исследовании ВАСН показано, что копептин является предиктором неблагоприятного прогноза – смерти и повторных госпитализаций у пациентов с ХСН. Также выявлено, что уровень копептина возрастает с функциональным классом (ФК) ХСН, что свидетельствует о неблагоприятном прогнозе у больных со II и III ФК ХСН. Т.е., копептин продемонстрировал себя как более чувствительный маркер по сравнению с BNP и NT-proBNP. Еще одним биомаркером с высокой прогностической характеристикой в отношении ХСН является адреномедуллин (АМ) – вазоактивный пептид, который относится к семейству, связанному с геном кальцитонина. В ряде исследований у пациентов с ХСН продемонстрировано повышение содержания АМ в плазме

крови пропорционально степени тяжести ХСН, доказано, что АМ - существенный независимый предиктор смерти при ХСН, наряду с такими показателями как возраст, пол, уровень креатинина и инфаркт миокарда (ИМ) в анамнезе (Ю.В. Лискова и др., 2015; А.А. Скворцов и др., 2018; А.А. Voors et al., 2009).

Учитывая вышесказанное, было изучено влияние ГЭТПВ на уровни адренормедуллина и копептина при экспериментальной ХСН.

У животных с ХСН концентрация АМ и копептина составила 51,6 пг/мл ($p<0,05$) и 39,2 пг/мл ($p<0,05$), против показателей группы интактных животных- 34,3 пг/мл и 23,6 пг/мл соответственно, что было на 50,4% и 66,1% выше. Уровни исследуемых маркеров у группы животных с ХСН, получавших ГЭТПВ и милдронат составили 39,5/25,2 пг/мл и 38,0/24,6 пг/мл и были ниже таковых значений контрольной группы животных на 23,4%/35,7% и 26,4/37,2% ($p<0,05$) соответственно и сопоставимы между собой (Рисунок 15).

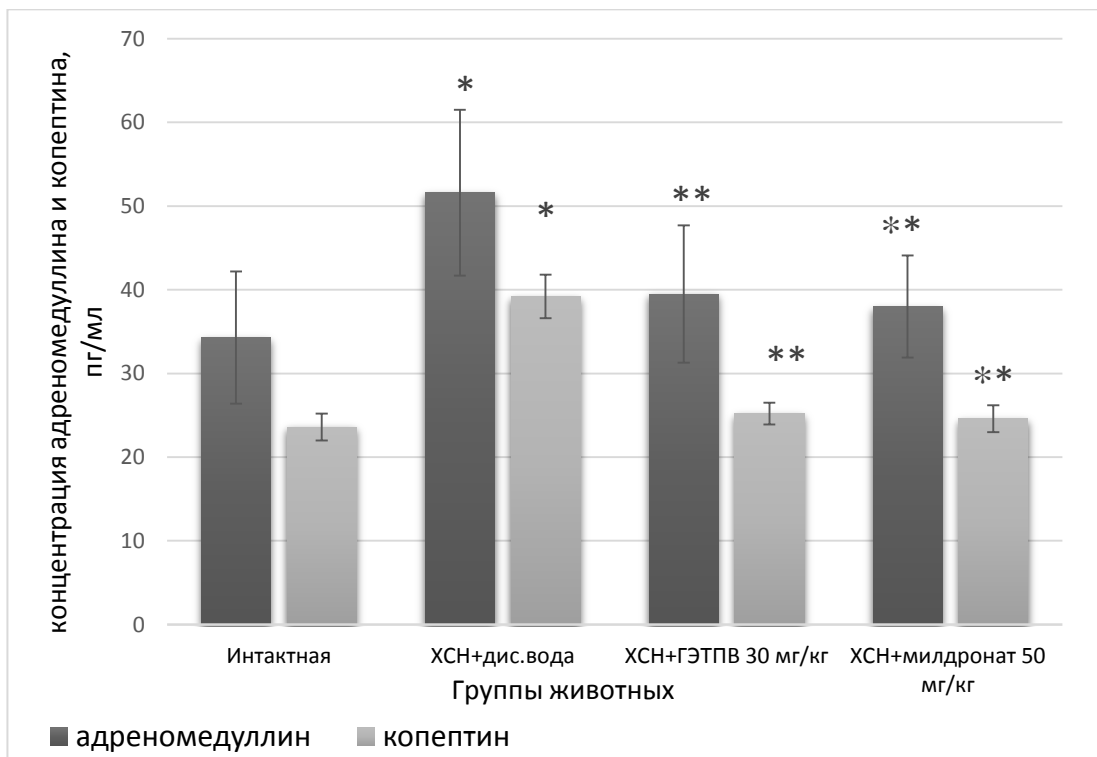


Рисунок 15-Влияние ГЭТПВ и милдроната на уровень адренормедуллина и копептина у животных с экспериментальной ХСН ($M\pm\sigma$).

*Примечание: * - относительно показателей группы интактных животных при $p < 0,05$;*

*** - относительно показателей контрольной группы животных с изопроterenоловой ХСН $p < 0,05$.*

4.5 Влияние ГЭТПВ на развитие оксидативного стресса и функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов крыс с экспериментальной ХСН

Доказано, что важная роль в патогенезе ХСН принадлежит иммуновоспалительным реакциям с повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов и интенсификацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Ю.Н. Беленков и др., 2009; А.М. Пристром, М. Бенхамед, 2012). Одной из основных мишеней оксидативного стресса (ОС) является эндотелий сосудов. Активные формы кислорода (АФК) повреждают его, снижается секреция и возрастает утилизация в стенке сосудов оксида азота (NO), что ведет к дисфункции эндотелия, усиленной вазоконстрикции, гиперкоагуляции и пролиферации гладких мышечных клеток. Другим механизмом эндотелиальной дисфункции является апоптоз эндотелиальных клеток, индуцируемый супероксид-анионами, которые образуются при взаимодействии АФК с ядерной и митохондриальной ДНК, и пероксинитритом, возникающим вследствие окисления NO (С.Г. Иванов и др., 2006; S. Mak, G.E. Newton, 2001; U. Forstermann, T. Munzel, 2006; G.L.Xiong et al., 2015; G.A. Ribeiro-Samora et al., 2017). Кроме того, свободные радикалы (СР) повреждают кардиомиоциты и способствуют ремоделированию миокарда, что вызывает ухудшению его сократительной функции.

В ряде исследований показано, что развитие ХСН связано с прогрессирующими изменениями ионных каналов - транспортеров, формирующих потенциал действия, которые обеспечивают обмен Ca^{2+} , сопряжение возбуждения и сокращения мышц, что в конечном итоге вызывает снижение инотропной функции (D.M. Bers, S. Despa, 2006; T. Aiba, G.F. Tomaselli, 2010). Также, нарушаются внутриклеточные сигнальные пути,

модулируемые АФК, оксидом азота и Ca^{2+} , являющимися регуляторами функции кардиомиоцитов. В настоящее время митохондриальная дисфункция рассматривается в качестве важного фактора, способствующего развитию ХСН (M. Bayeva et al., 2013). Известно, что функциональные (увеличение продукции АФК, уменьшение поглощения Ca^{2+} и нарушение синтеза АТФ) и структурные изменения митохондрий связаны с ХСН (T.Aiba, G.F. Tomaselli, 2010; Y. Chen et al., 2011; K.Y. Goh et al., 2016).

Генерация АФК существенно возрастает в поврежденном миокарде при ХСН (H. Tsutsui et al., 2008;2011). Большая часть образуется при утечке электронов из электрон-транспортной цепи на уровне комплексов I и III (T.Ide et al., 2001). Также важным источником АФК в сердце является NADPH -оксидаза. Описано пять изоформ данного фермента, четвертая из которых локализуется в митохондриях кардиомиоцитов и участвует в продукции реактивных форм кислорода при ХСН (J.Kuroda et al., 2010). Наиболее вероятным механизмом их действия при ХСН является повреждение клеточных и митохондриальных структур: окисление миофибриллярных белков и снижение сократимости как следствие нарушения актин-миозиновых взаимодействий, ферментативных функций, чувствительности к Ca^{2+} (M.Bayeva, H. Ardehali, 2010). АФК способны повреждать митохондриальную ДНК, а снижение уровня коактиватора 1-альфа гамма-рецептора, активирующего пролиферацию пероксисомы (peroxisome proliferative activated receptor gamma coactivator 1-alpha, PGC1 α) может усугубить окислительный стресс и повреждение митохондрий, т.к. данный белок является частью митохондриальной антиоксидантной защиты, регулирует экспрессию супероксиддисмутазы (СОД2) и тиоредоксина в митохондриях кардиомиоцитов (Z. Lu et al., 2010). К тому же, АФК контролируют посттрансляционные модификации матриксных металлопротеаз, которые облегчая ремоделирование внеклеточного матрикса, вызывают фиброз и дилатацию сердца (D.A. Siwik, W.S. Colucci, 2004).

В связи с вышеизложенным, изучено влияние ГЭТПВ на развитие оксидативного стресса и функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов в условиях экспериментальной ХСН.

Выявлено, что скорость потребления кислорода в метаболическом состоянии V_3 по Чансу у животных с ХСН по сравнению с интактными животными достоверно снижалась на 53,3% ($p < 0,05$) при использовании малата (субстрата окисления I комплекса ЦПЭ), на 70,6% ($p < 0,05$) – сукцината (субстрата II комплекса ЦПЭ) и на 63,6% ($p < 0,05$) при их одновременном применении (Рисунок 15).

В митохондриях сердца животных, получавших ГЭТПВ, стимулированная АДФ скорость поглощения кислорода (V_3) была выше для первого и второго комплексов дыхательной цепи на 77,2% ($p < 0,05$) и 114,6% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с животными контрольной группы. Милдронат также способствовал увеличению данного показателя на 58,9% при использовании в качестве субстрата окисления малата и на 52,2% при использовании сукцината (Рисунок 16).

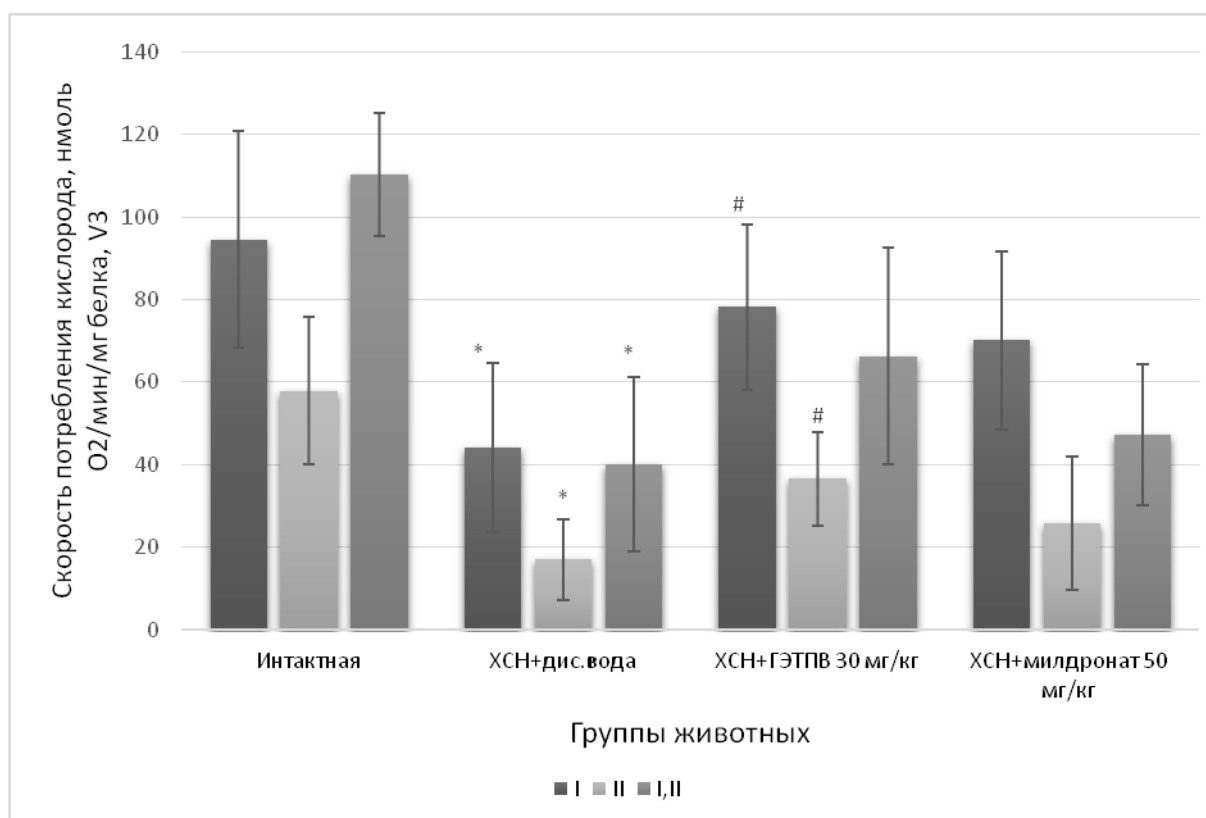


Рисунок 16- Влияние ГЭТПВ на скорость потребления кислорода в метаболическом состоянии V_3 митохондриями сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой, U- критерий Манна-Уитни; # – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, по критерию Крускала-Уоллиса с пост-тестом Данна для множественных сравнений. I, II – первый и второй комплексы дыхательной цепи митохондрий кардиомиоцитов.

Нестимулированная скорость потребления кислорода (V_4) в митохондриях крыс с ХСН, получавших ГЭТПВ, как для I так и для II комплекса существенно не отличалась от таковой группы контроля. Милдронат способствовал снижению этого показателя для двух комплексов, но при этом статистически достоверных различий выявлено не было (Рисунок 17).

При этом скорость дыхания после исчерпания АДФ (V_4 по Чансу) статистически значимо не отличалась в обеих группах (Рисунок 17).

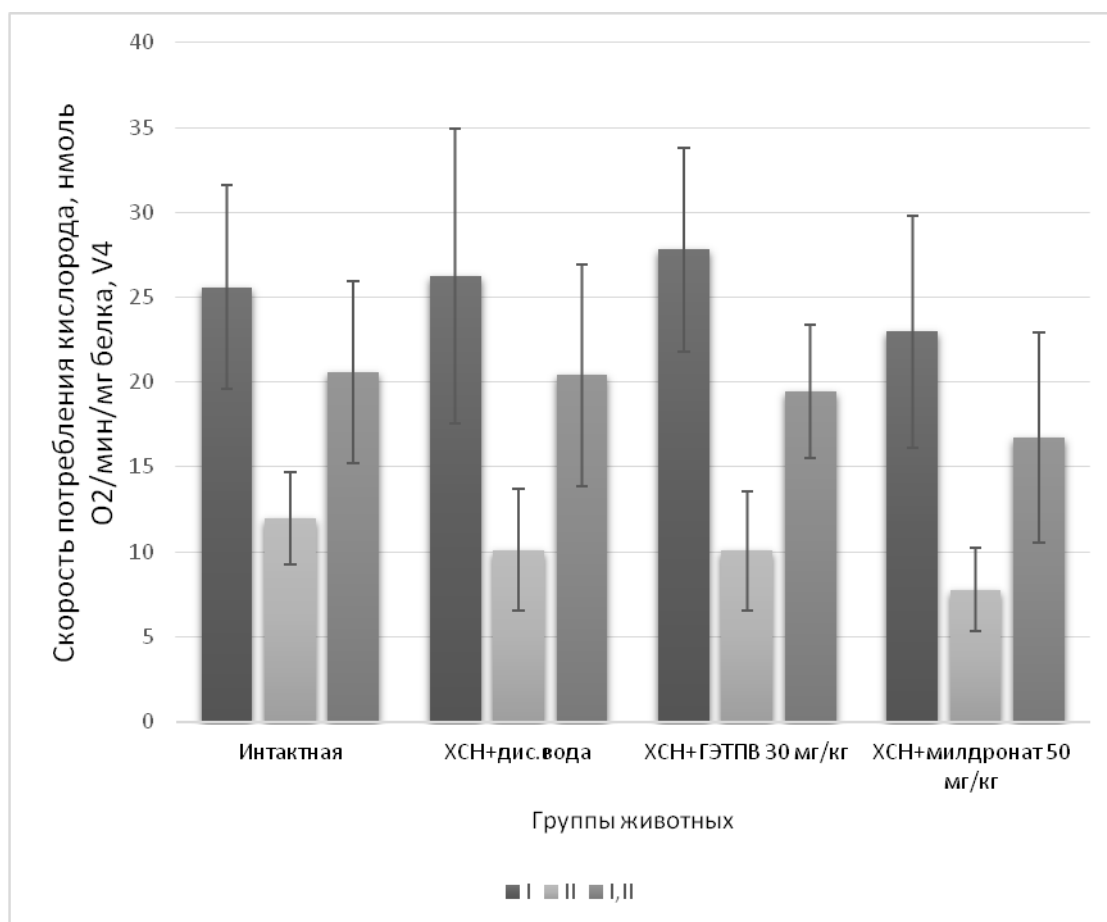


Рисунок 17 - Влияние ГЭТПВ на скорость потребления кислорода в метаболическом состоянии V_4 митохондриями сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

С целью оценки дисфункции митохондрий был рассчитан коэффициент дыхательного контроля по Чансу – отношение V_3/V_4 . В контрольной группе крыс коэффициент дыхательного контроля достоверно снижался в 2,3 раза для I комплекса, в 2,5 – для II комплекса и в 2,6 раза при одновременной работе двух комплексов дыхательной цепи по сравнению с интактными животными (Рисунок 18).

Коэффициент дыхательного контроля у крыс контрольной группы и, которым вводили ГЭТПВ, увеличился в 1,7 раза ($p < 0,05$) для I комплекса и в 2 раза ($p < 0,05$) для II комплекса по сравнению с негативным контролем. Отношение V_3/V_4 в митохондриях кардиомиоцитов животных, получавших милдронат, было в 1,9 раза выше, чем у животных контрольной группы как для I ($p < 0,05$), так и для II комплекса дыхательной цепи (Рисунок 18).

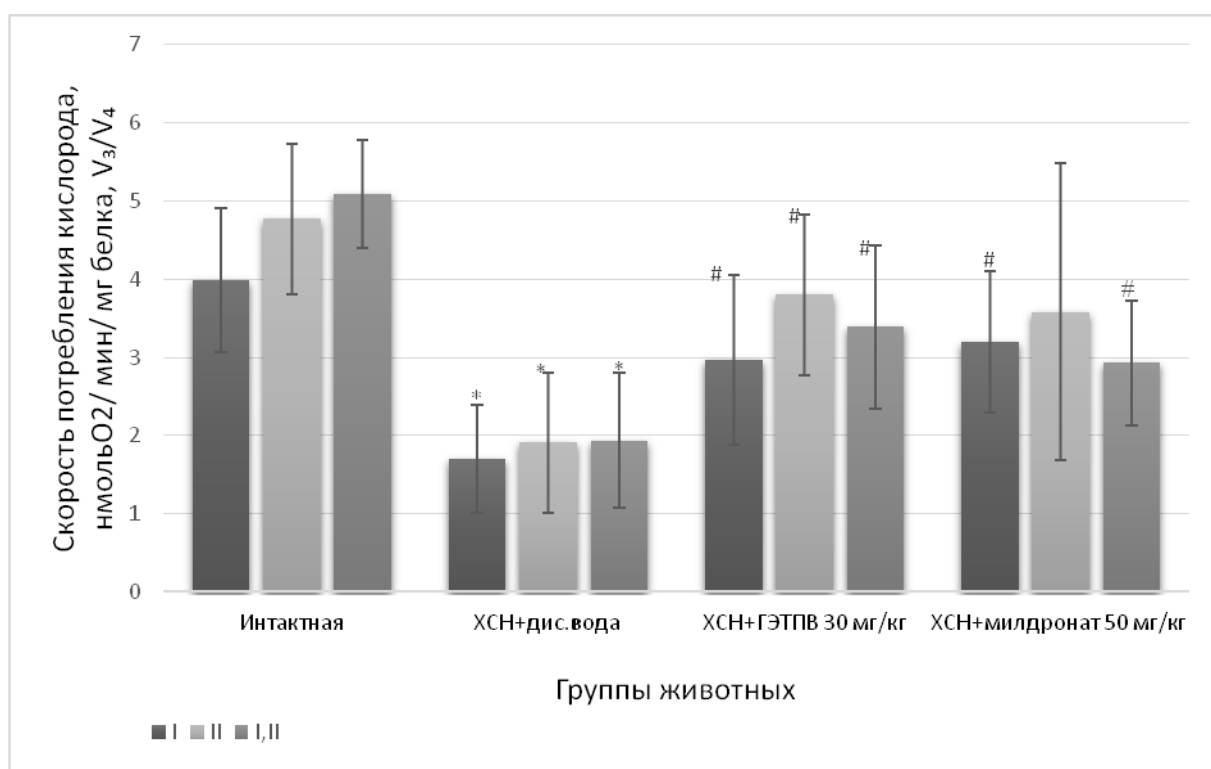


Рисунок 18- Изменение коэффициента дыхательного контроля у животных с ХСН под влиянием ГЭТПВ.

*Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой, U- критерий Манна-Уитни; # – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой, по критерию Крускала-Уоллиса с пост-тестом Данна для множественных сравнений. I, II – первый и второй комплексы дыхательной цепи митохондрий кардиомиоцитов.*

Дисфункция митохондрий при экспериментальной ХСН, очевидно, обусловлена развитием оксидативного стресса. Выявлено, что у животных контрольной группы концентрация малонового диальдегида повышалась на 54,7% ($p < 0,05$) по сравнению с показателем интактной группы (Рисунок 19). При этом уровень диеновых конъюгатов был незначительно выше, а дикетонов не изменялся по отношению к группе интактных крыс (Рис. 20, 21).

Суммарная СОД-активность в контрольной группе была ниже на 17,5% ($p < 0,05$), активность каталазы – на 18,4% по сравнению с интактной группой, ГП – практически не изменялась (Рисунок 22, 23, 24).

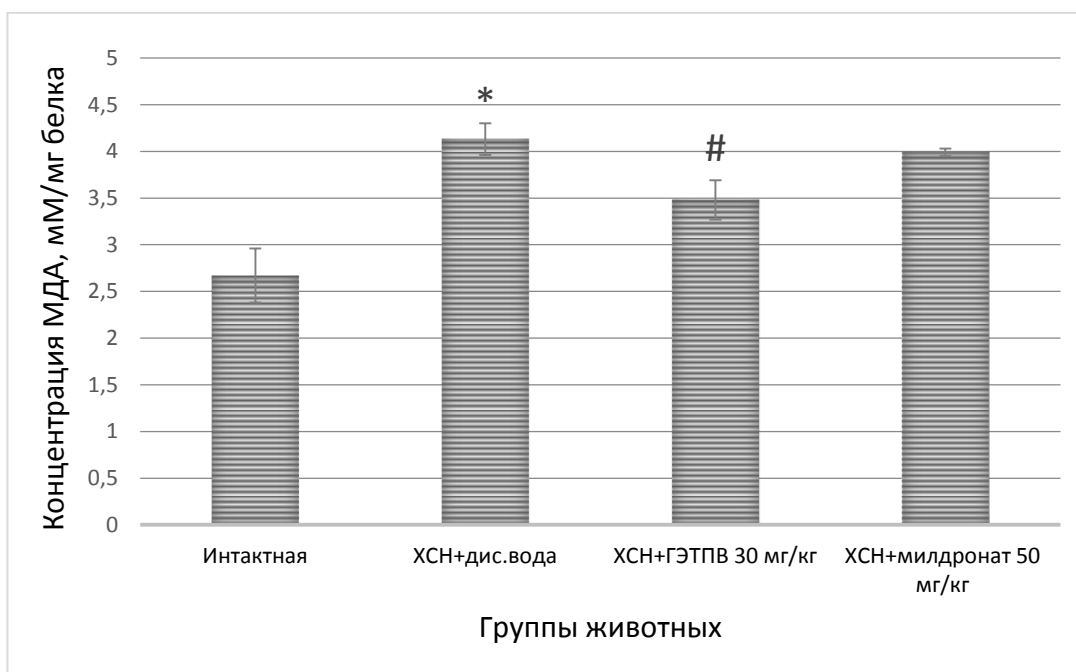


Рисунок 19- Влияние ГЭТПВ и милдроната на концентрацию МДА (мм/мг белка) в митохондриях сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

** - $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой по критерию Манна-Уитни*

- $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой по критерию Крускала- Уоллиса с пост-тестом Данна.

У крыс с ХСН, получавших ГЭТПВ, концентрация МДА была на 15,7% ($p < 0,05$) ниже, чем у животных контрольной группы (Рисунок 19), диеновых конъюгатов также снижалась по действием ГЭТПВ (Рисунок 20), при этом исследуемый препарат не влиял на уровень дикетонов (Рисунок 21).

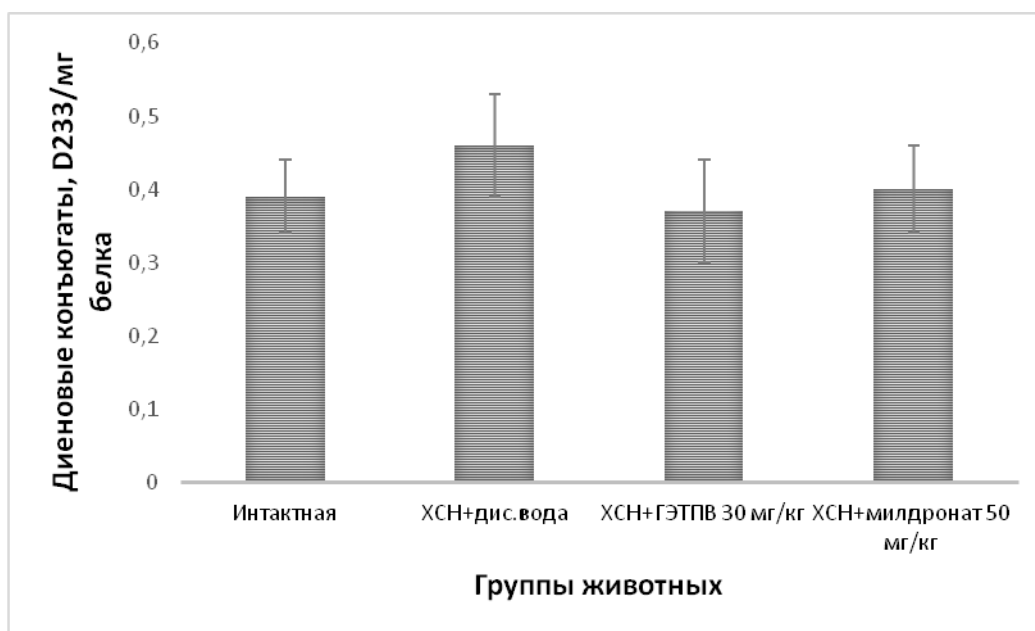


Рисунок 20-Влияние ГЭТПВ и милдроната на уровень диеновых конъюгатов (D₂₃₃/мг белка) в митохондриях сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

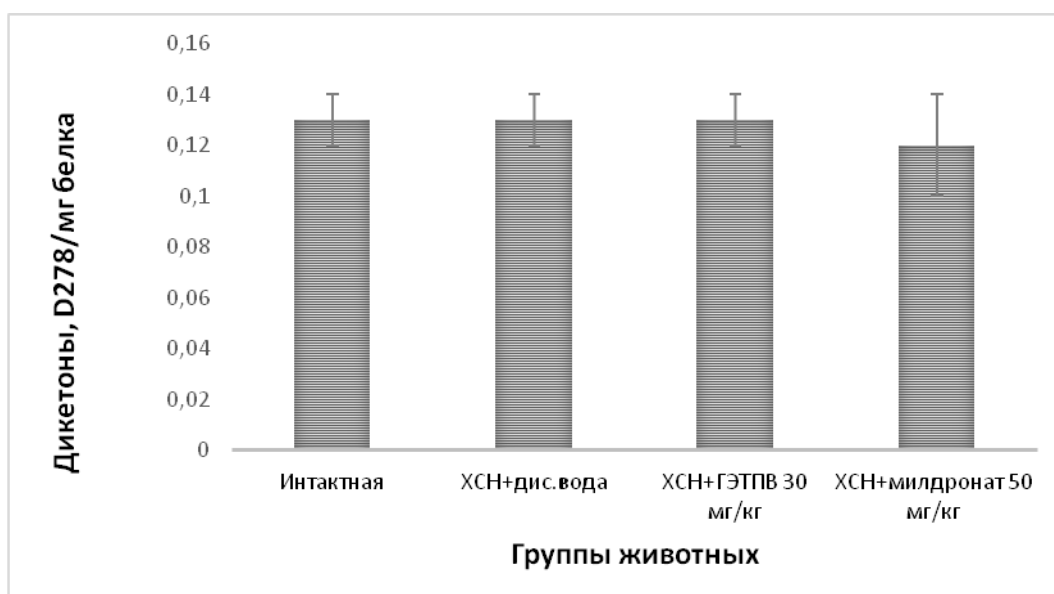


Рисунок 21- Влияние ГЭТПВ и милдроната на уровень дикетонов (D_{278} /мг белка) в митохондриях сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

Суммарная СОД-активность у крыс опытных групп, получавших ГЭТПВ и милдронат, была на 56,3% ($p < 0,05$) и 12,7% выше соответственно по сравнению с группой контроля. При том, что активность ГП и каталазы существенно не изменялась (Рисунок 22, 23, 24).

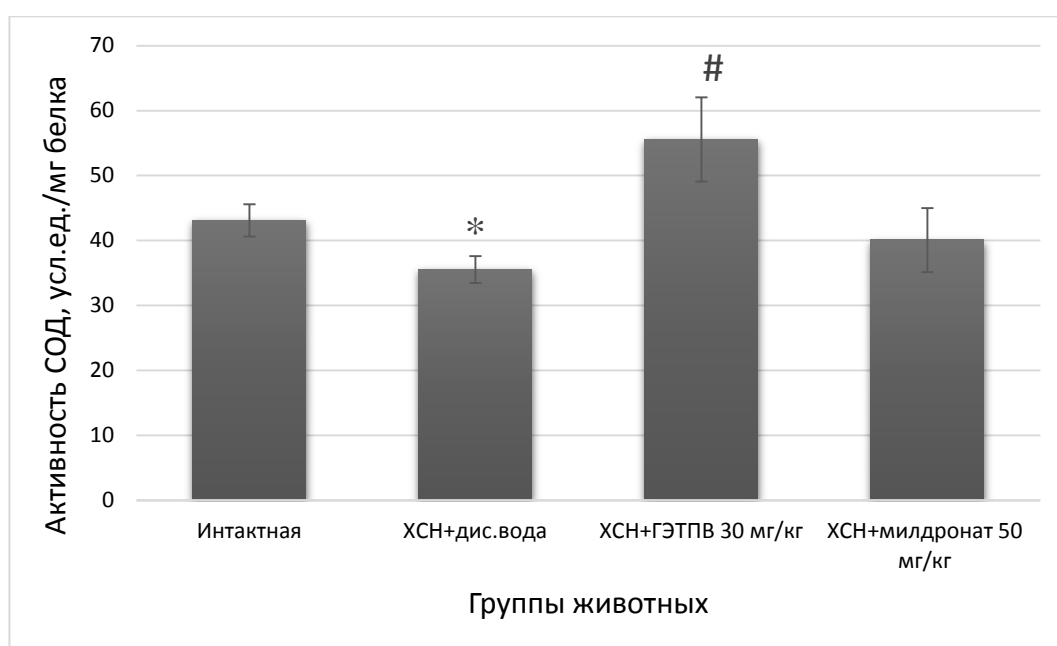


Рисунок 22-Влияние ГЭТПВ и милдроната на активность СОД (усл.ед./мг белка) в митохондриях сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

* - $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой по критерию Манна-Уитни
 # - $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой по критерию Крускала- Уоллиса с пост-тестом Данна.

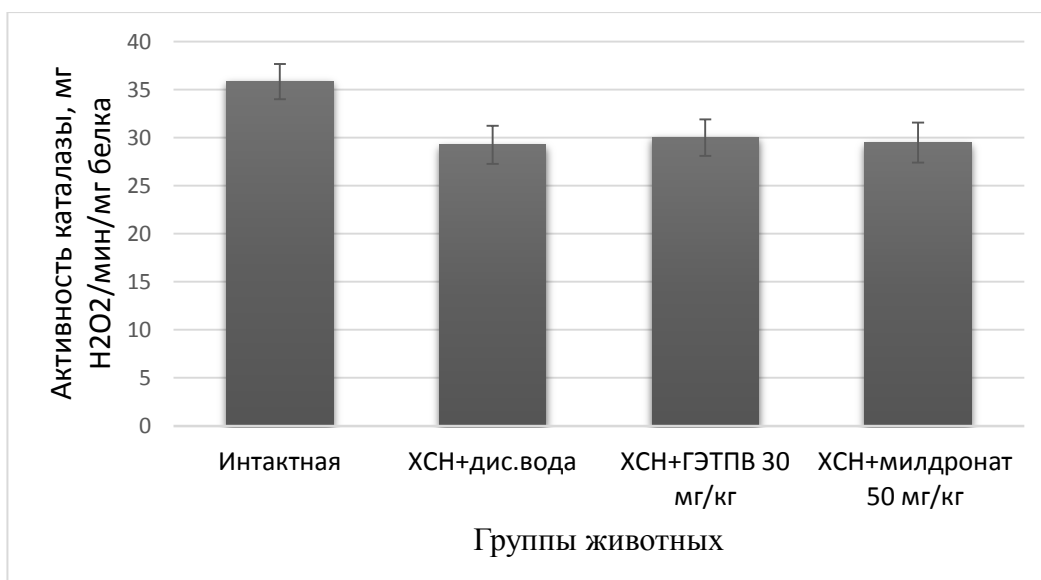


Рисунок 23- Влияние ГЭТПВ и милдроната на активность каталазы (мг H₂O₂/мин/мг белка) в митохондриях сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

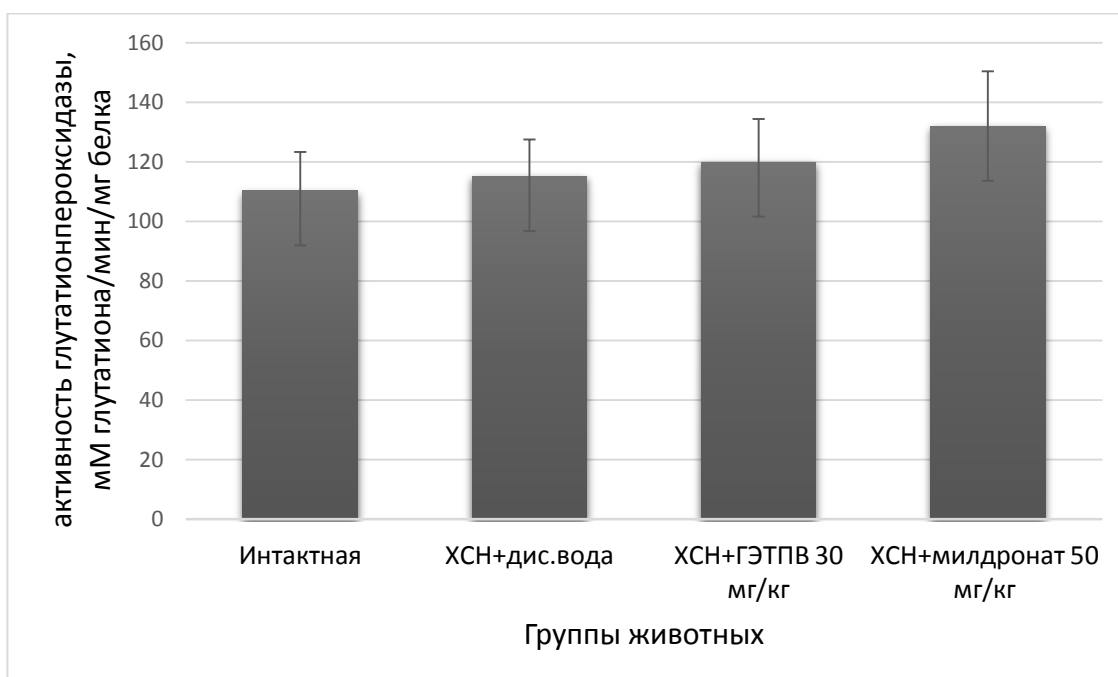


Рисунок 24- Влияние ГЭТПВ и милдроната на активность глутатионпероксидазы (нМ глутатиона/мин/мг белка) в митохондриях сердца крыс при экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

Таким образом, ГЭТПВ ограничивает развитие митохондриальной дисфункции у крыс, которым вводили изопротеренол, о чем свидетельствует повышение КДК, суммарной СОД-активности и снижение концентрации вторичных продуктов ПОЛ в митохондриях сердца животных, получавших вещество, по сравнению с показателями контрольной группы.

Заключение

На основании полученных данных можно сделать вывод, что при экспериментальной ХСН происходит снижение скорости кровотока в сонных артериях крыс, гиперагрегация и повышение концентрации фактора фон Виллебранда по сравнению с животными интактной группы, что говорит о развитии дисфункции эндотелия.

Также в условиях экспериментальной ХСН наблюдается митохондриальная дисфункция, которая обусловлена, вероятно, развитием оксидативного стресса, о чем свидетельствует уменьшение скорости потребления кислорода, накопление продуктов ПОЛ и снижение активности ферментов антиоксидантной защиты в митохондриях сердца крыс.

ГЭТПВ предупреждает развитие эндотелиальной дисфункции у животных в условиях экспериментальной ХСН, на что указывает его положительное влияние на вазодилатирующую функцию эндотелия, антиагрегантное действие, снижение концентрации маркера сосудистых нарушений фВ в плазме крови. Препарат ограничивает развитие процессов ПОЛ, повышает активность ферментов антиоксидантной защиты и улучшает дыхательную функцию митохондрий кардиомиоцитов животных с ХСН, о чем свидетельствует снижение концентрации МДА в митохондриях кардиомиоцитов, увеличение СОД-активности и повышение скоростей дыхания митохондрий.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате эпидемиологических исследований установлена большая распространенность АГ среди населения многих стран, составляющая от 30 до 50%, нередко протекающая мало или бессимптомно до определенного периода времени. АГ является самостоятельным сердечно-сосудистым заболеванием, а также фактором риска развития ишемической болезни сердца и ее острой формы инфаркта миокарда, инсульта, сердечной и почечной недостаточности (Е.А. Полунина и др., 2015; И.Е. Чазова, Е.В. Ощепкова, 2015; J.A.Wermelt et al., 2017).

Хроническая сердечная недостаточность характеризуется неуклонным ростом количества пациентов с данной нозологией во всем мире, неудовлетворительным прогнозом заболевания, увеличением расходов на лечение (Ю.В. Лискова и др., 2015; J.Chahine, H. Alvey, 2019). Одними из основных механизмов формирования ХСН являются: нарушение сократительной функции и ремоделирование миокарда, активация симпатической нервной системы, повышение активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, что приводит к задержке ионов натрия и воды, вазоконстрикции и, в конечном итоге, снижению сократительной функции левого желудочка (ЛЖ) сердца (Э.Б. Фролова и др., 2013; M.S. Kim et al., 2019).

Медикаментозное лечение ХСН и АГ даже у лиц, получающих регулярное лечение в полном объеме, не всегда эффективны (В.П.Михин, Ф.Е.Хлебодаров, 2010). Поэтому целесообразным представляется поиск новых веществ для фармакологической коррекции этих заболеваний.

По сравнению с синтетическими лекарствами фитопрепараты оказывают мягкое воздействие на организм, имеют малое число противопоказаний или практически не имеют их. При приеме фитопрепаратов побочные эффекты, аллергические реакции наблюдаются сравнительно редко. Фитопрепараты обладают сравнительно низкой

токсичностью, благодаря чему натуральные препараты относительно безопасны. Фитопрепараты в отличие от синтетических -не вызывают привыкания, обладают более высокой биодоступностью (Т.В. Самбукова и др., 2017).

Гипотензивное действие растений, содержащих флавоноиды, показано в ряде экспериментальных работ. Например, *Artemisia campestris* L. (Asteraceae) обладает антигипертензивным и вазорелаксирующим эффектом (I. Dib et al., 2017). Генистеин (4', 5, 7-тригидрокси-изофлавоноид), содержащийся в растении Leguminosae, может действовать как сосудорасширяющий, антитромботический и антиатеросклеротический агент (T.L. Guo et al., 2015). Водный метанольный экстракт плодов *Ficus carica* L. (Moraceae), содержащий кверцетин, оказывает гипотензивное и антигипертензивное действие в эксперименте (I.S. Alamgeer, 2017). Пуэрарин (Puerarin)- изофлавоноидное соединение из корней китайской травы ку-дзу (Kudzu), широко используется для лечения АГ и сердечно-сосудистых заболеваний в Китае. Исследования показывают, что пуэрарин обладает эндотелиопротекторным действием (C. Tan, 2017).

Primula veris L (сем. Primulaceae), из измельченной травы которого получили исследуемый густой экстракт, поливитаминное и пищевое растение. По литературным данным его корни имеют в составе сапонины, гликозиды примулаверин и примверин, примуловую кислоту, кремниевую кислоту, флавоны, дубильные вещества, витамины С и А, эфирные масла. Листья богаты аскорбиновой кислотой, каротиноидами, минеральными веществами (Т.Л. Киселева, А.А. Карпеев, 2009). При исследовании компонентов экстракта показано, что преобладающими флавоноидными соединениями в нем являются рутин, гиперозид, кверцимеритрин (Г.М. Латыпова, 2015; A. Mueller et al., 2006; E.M. El Morchid et al., 2014; L. Apel et al., 2017). Ранее в различных модельных системах было выявлено прямое антиоксидантное действие и способность раствора ГЭТПВ восстанавливать

антиоксидантную систему у экспериментальных животных (Д.Ф. Иванова и др., 2013; Г.М. Латыпова и др., 2014).

В этой связи изучено влияние густого экстракта из травы первоцвета весеннего (ГЭТПВ) в разных дозах на уровень артериального давления при экспериментальной стресс-индуцированной артериальной гипертензии (ЭАГ).

В условиях комбинированной экспериментальной артериальной гипертензии, вызванной стрессом и заменой питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида, ГЭТПВ в наиболее эффективной дозе 60 мг/кг, способствовал снижению систолического и диастолического АД по сравнению с исходными данными. По степени гипотензивного эффекта ГЭТПВ был сопоставим с препаратами сравнения небивололом и раунатином.

Гипотензивное действие исследуемого экстракта, вероятно, объясняется наличием в его составе флавоноидов, в том числе полиметоксилированных и рутин, антоцианидов, тритерпеновых гликозидов, таких как урсоловая кислота и эсцин, а также аскорбиновой кислоты, кумаринов, обладающих эндотелиопротекторным действием и антиоксидантной активностью (Л.Д. Лукьянова и др., 2007; П.Б. Лубсандоржиева, 2009; И.Н. Тюренков и др., 2010; В.Н. Коденцова и др., 2013; В.А. Куркин и др., 2013; P.G. Pietta, 2000).

Выявленная эндотелио-, ангиопротекторная, антиоксидантная и антикоагулянтная активности у густого экстракта из травы первоцветавесеннего (*Primula veris* L.) (Д.Ф. Иванова и др., 2013; Г.М. Латыпова и др., 2014; Г.М. Латыпова, 2015; Пат. 2342942 Российская Федерация), позволяет предполагать наличие у него кардиопротекторных свойств.

В экспериментах было показано, что антиоксиданты могут улучшать сократительную функцию, замедлять дилатацию камер сердца и снижать смертность (Л.О. Палаткина и др., 2012).

В связи с этим было изучено влияние ГЭТПВ на функциональные резервы сердца.

При моделировании изопротереноловой сердечной недостаточности в течение 21 дня у животных значительно снижаются ино- и хронотропные резервы сердца, о чем можно судить по более низкому по сравнению с интактной группой приросту скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС при проведении функциональных нагрузок- пробы на адренореактивность, нагрузки объемом и максимальной изометрической нагрузки, а также по более низким значениям максимальной интенсивности функционирования структур.

Установлено, что при пероральном введении ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг оказывает кардиопротекторное действие, сопоставимое с препаратом сравнения милдронатом и по некоторым показателями превосходящее его, о чем свидетельствует более высокий прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, МИФС и самый низкий процент гибели по сравнению с животными контрольной группы и получавшими вещество в дозах 60 и 150 мг/кг.

Одной из основных причин формирования ХСН и АГ является эндотелиальная дисфункция, которая определяет выраженность клинических симптомов у больных. Триггером для развития ЭД является нарушение биодоступности эндотелий-продуцируемого оксида азота (NO), поэтому угнетение синтеза NO под воздействием АФК является одним из основных патогенетических механизмов прогрессирования ХСН и АГ. Маркерами ЭД являются: снижение эндотелий-зависимой вазодилатации сосудов, изменение содержания в крови таких регуляторных пептидов как фактор Виллебранда (Г.Н. Танатарова, 2010; E.Gkaliagkousi et al., 2015; O. Yang et al., 2015; J.M. Ter Maaten et al., 2016; A.B. Gevaert et al., 2017; D. Konukoglu, H. Uzun, 2017). Наличие эндотелиальной дисфункции при АГ не вызывает сомнения. Эндотелий является, с одной стороны, наиболее рано поражающимся органом-мишенью при АГ, а с другой стороны - источником повышения АД (Н.А. Корягина, 2012; А.Р. Заирова, Е.В. Ощепкова, 2013;

E.Gkaliagkousi et al., 2015; J.M. Ter Maaten et al., 2016; A.B. Gevaert et al., 2017; D. Konukoglu et al., 2017; R. Furuuchi et al., 2018).

В настоящее время ведется активная разработка средств, оказывающих терапевтическое влияние на сосудистый эндотелий (Г.Н. Танатарова, 2010).

Внимание уделяется и растительным препаратам, которые, также обладают антиоксидантными свойствами (R. Mattera et al., 2017) и могут быть более эффективными по сравнению с синтетическими препаратами, т.к. проявляют плейотропные свойства (R. Saller, M. Rostock, 2012). Например, полифенолы, содержащиеся в растениях, могут противостоять окислительно-индуцированному повреждению путем их модуляторного действия внутриклеточных сигнальных путей (P.V. Dlundla et al., 2017).

Ранее изученный ГЭТПВ, является богатым источником полифенольных соединений (А.Л. Буданцев, 2009), что позволило предположить наличие у него эндотелиопротекторных свойств. В этой связи было изучено действие ГЭТПВ на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях ЭАГ и ХСН.

В нормальных условиях АцХ стимулирует образование и выработку эндотелием NO, способствующий вазодилатации и улучшению кровоснабжения органов и тканей. L-NAME, являясь блокатором NO-синтаз, вызывает вазоконстрикцию, которая проявляется падением скорости кровотока в сонных артериях.

У крыс, получавших ГЭТПВ и препараты сравнения при ЭАГ и ХСН, ацетилхолин более выраженно увеличивал скорость кровотока в сонной артерии, а неселективный ингибитор NO-синтаз L-NAME- снижало сравнению с таковыми животных контрольной группы. Эти данные свидетельствуют о том, что у крыс с ЭАГ и ХСН, которым вводили ГЭТПВ и препараты сравнения, стимулируемая и базальная продукция NO не изменялась, в то время как у контрольной группы животных отмечалось ее выраженное уменьшение.

Вероятно, эндотелипротекторные свойства ГЭТПВ связаны с антиоксидантной его активностью, способностью ограничивать развитие окислительного стресса и противовоспалительным действием благодаря флавоноидам, сапонидам, входящим в состав травы первоцвета весеннего.

Нарушение вазодилатирующей функции эндотелия при ХСН оказывает воздействие на тонус и тромбогенность сосудистой стенки, т. к. вырабатываемые эндотелием нейрогормоны могут усугублять ремоделирование сосудов и сердца. Следовательно, одним из проявлений системной эндотелиальной дисфункции является повышенная адгезия и агрегация тромбоцитов. Результаты многочисленных исследований показывают, что при ХСН и АГ происходит активация тромбоцитов и снижение биодоступности NO вследствие возникновения окислительного стресса (А.А. Попова и др., 2009).

В этой связи было изучено влияние ГЭТПВ на функцию тромбоцитов в условиях ЭАГ и ХСН.

У животных контрольной группы определялось снижение степени и скорости агрегации тромбоцитов. ГЭТПВ способствовал снижению проагрегантной активности.

Показано, что концентрация фактора Виллебранда была выше у животных с ХСН и ЭАГ по сравнению с интактной группой, что свидетельствует о развитии ЭД и достоверно ниже в группе, получавшей ГЭТПВ и препараты сравнения.

Молекулярные биомаркеры на сегодняшний день являются надежным, безопасным и объективным средством диагностики сердечной недостаточности и стратификации риска неблагоприятных событий, дополняющим клинические и инструментальные данные и отражающим особенности патофизиологических механизмов развития и прогрессирования заболевания у конкретного пациента.

В Рекомендациях Российского кардиологического общества к числу факторов, влияющих на прогноз, отнесены: адренomedуллин,

натрийуретические пептиды, вазопрессин/копептин, провоспалительные цитокины, ST-2, галектин-3, маркеры баланса коллагена и маркеры ренин-ангиотензиновой системы (В.Ю. Мареев и др., 2013). Копептин является C-концевым фрагментом предшественника аргинина-вазопрессина. В исследовании ВАСН показано, что копептин является предиктором неблагоприятного прогноза – смерти и повторных госпитализаций у пациентов с ХСН, а также выявлено, что уровень копептина положительно коррелирует с функциональным классом (ФК) ХСН. В ряде исследований у пациентов с ХСН продемонстрировано повышение содержания еще одного биомаркера- адреномедуллина в плазме крови пропорционально степени тяжести ХСН. Доказано, что АМ -существенный независимый предиктор смерти при ХСН, наряду с такими показателями как возраст, пол, уровень креатинина и инфаркт миокарда (ИМ) в анамнезе (Ю.В. Лискова и др., 2015; А.А. Скворцов и др., 2018; A. A.Voors et al., 2009).

В этой связи было изучено влияние ГЭТПВ на уровни адреномедуллина и копептина при экспериментальной ХСН.

У животных с ХСН уровни исследуемых биомаркеров были выше аналогичных значений группы интактных крыс, а у самцов с ХСН, получавших ГЭТПВ и милдронат, ниже, чем у контрольной группы.

Вследствие снижения объема кровотока и гипертрофии кардиомиоцитов при ХСН развивается гипоксия (J.M.Hollander et al., 2014). В этих условиях в клетках сердца вырабатываются факторы, вызывающие снижение активности I, II и IV комплексов дыхательной цепи, повышающие сродство IV комплекса к кислороду, уменьшающие выход цитохрома С в цитоплазму. Перечисленные события способствуют ограничению продукции АФК и открытия пор митохондриальной мембраны, т.е. носят адаптационный характер (L.C.Heather et al., 2012). Но при длительной гипоксии и уменьшении синтеза АТФ продукция АФК будет нарастать, что приведет к снижению функциональной активности митохондрий (D.F. Dai, 2017).

Полученные результаты свидетельствуют о значительных нарушениях в работе митохондрий кардиомиоцитов крыс при ХСН, что совпадает с литературными данными (L.C. Heather et al., 2012). Причиной дисфункции митохондрий при экспериментальной ХСН является окислительный стресс, о развитии которого можно судить по увеличению концентрации МДА в митохондриях кардиомиоцитов и снижению активности СОД (R.J. Bonafede et al., 2017).

Антиоксидантные свойства выявлены у многих растений: например, Ройбос (*Rooibos*) - коренное южноафриканское растение может защищать кардиомиоциты от апоптоза. Эффект связан, вероятно, с антиоксидантным действием флавоноидов, находящихся в составе растения (M.A. Stander et al., 2017). В ряде исследований выявлены антиоксидантные свойства чеснока, обусловленные наличием в его составе S-аллилцистеина (S-allyl-L-cysteine, SAC), S-аллилмеркаптоцистеина (S-allylmercapto-L-cysteine), N альфа- (1-дезоксид-Д-фруктоз-1-ил) -L-аргинин (N alpha-(1-deoxy-D-fructos-1-yl)-L-arginine (Fru-Arg), алликсина и селена, которые являются стабильными антиоксидантами с высокой биодоступностью (K. Ryu et al., 2001). Известно, что листья, цветы и плоды боярышника содержат ряд биологически активных веществ, таких как олигомерные процианины, флавоноиды и катехины. По данным ряда исследований, экстракт из плодов боярышника обладает антиоксидантными свойствами, оказывает кардиопротекторное воздействие при ишемических поражениях сердечной мышцы (D. Wyspiańska et al., 2017).

Было показано, что *Salvia miltiorrhiza* защищает мембраны митохондрий миокарда от повреждения свободными радикалами, повышает силу сокращений и реоксигенацию ишемизированного сердца (L. Wang et al., 2017).

В ряде исследований выявлено благоприятное воздействие сапонинов, полученных из растительного сырья, при лечении и профилактике заболеваний сердечно-сосудистой системы. Изучены сапонины из растений рода панакс (*panax*), экстракт володушки (*viperleugum*), соевые сапонины и

сапонины рода астрагал (*astragalus*), сальвия (*salvia*) и личи (*litchi*). Они оказывают положительное влияние на функцию сердца, тормозят образование пероксидов липидов в сердечной мышце, снижают свертывание крови, уровень холестерина и сахара в крови. Действуют вещества либо напрямую, блокируя перенос ионов Ca^{2+} , либо модулируя функцию натрий-калиевой АТФ-азы. Из этого следует, что сапонины являются перспективной группой препаратов природного происхождения для профилактики и лечения болезней сердца и системы кровообращения (Ф.М. Меликов, 2014). Также ряд авторов показал антиоксидантные эффекты дитерпеноидов, особенно карнозиновой кислоты и карнозола, выделенных из листьев розмарина (M. Loussouarn, 2017).

В состав ГЭТПВ входят флавоноиды, которые вероятно, ограничивают формирование АФК за счет подавления перекисных процессов уже на начальной стадии. Они выступают в качестве «ловушек» супероксидрадикала и перекиси водорода, ограничивая дальнейшее образование более токсичных продуктов (A. Maietti, 2017).

В проведенных экспериментах у животных с ХСН, получавших ГЭТПВ, отмечено снижение уровня МДА и увеличение активности СОД, что свидетельствует об ограничении развития окислительного стресса. Кроме того, есть данные, что флавоноиды препятствуют развитию апоптоза клеток (H. Ma et al., 2011) и регулируют экспрессию коннексина-43 (Cx43) - основного белка щелевого пространства, важного для межклеточной коммуникации и функционирования кардиомиоцитов (H.H. Wang et al., 2015). Вероятно, вышесказанным можно объяснить значительное улучшение функциональных показателей митохондрий у животных с ХСН, получавших ГЭТПВ, по сравнению с группой контроля. При использовании в качестве субстрата окисления малата скорость поглощения кислорода после добавления АТФ достоверно повышалась, восстанавливалось сопряжение между дыханием и фосфорилированием. Еще более выраженное действие

ГЭТПВ оказывал на дыхательный комплекс II, активность которого обычно возрастает при гипоксии (Ю.П. Орлов, Н.В. Говорова, 2014).

Милдронат-аналог γ -бутиробетаина, угнетая γ -бутиробетаингидроксилазу, он останавливает синтез карнитина, который является переносчиком жирных кислот в митохондрии. Таким образом, блокируется не только транспорт СЖК в митохондрии и их карнитинзависимое окисление с большой затратой кислорода, а также увеличивается концентрация γ -бутиробетаина. Последний стимулирует биосинтез оксида азота NO – медиатора NO-зависимой стресс-лимитирующей системы, являющегося универсальным регулятором процесса адаптации (В.Г. Кукес, 2013). Милдронат обладает цитопротективным и антигипоксантами действиями (В.В. Афанасьев, Н.К. Свиридова, 2014; В.П. Михин, 2015; А.С. Сычёва и др., 2019), обеспечивает коррекцию метаболизма и энергопродукции клеток миокарда в условиях ишемии и гипоксии (В.В. Афанасьев, Н.К. Свиридова, 2014).

Милдронат также ограничивал повреждающее действие ХСН на митохондрии, однако его влияние было больше выражено для I комплекса дыхательной цепи. У животных, получавших препарат, увеличение сопряжения было обусловлено повышением стимулированной скорости дыхания и снижением дыхания после истощения АДФ, что, вероятно, связано со снижением утечки электронов из дыхательной цепи.

Таким образом, ГЭТПВ способствует ограничению развития окислительного стресса в митохондриях кардиомиоцитов животных с экспериментальной ХСН.

Исследуемые препараты не оказывали существенного влияния на АЧТВ, ПТВ и концентрацию фибриногена, изменения которых в сторону гиперкоагуляции наблюдались у животных контрольной группы в условиях ЭАГ.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что ГЭТПВ имеет гипотензивный и кардиопротекторный эффект, на что

указывает положительное влияние на вазодилатирующую функцию эндотелия, антикоагулянтная, антитромботическая, антиоксидантная активность.

ВЫВОДЫ

1. ГЭТПВ оказывает гипотензивное действие в условиях ЭАГ, вызванной длительным стрессорным воздействием и заменой питьевой воды на 1,8% раствор натрия хлорида, наиболее выраженным в дозе 60 мг/кг, на что указывает более низкий –на 13,6% и 13,9% прирост САД и ДАД относительно исходных данных у животных, получавших исследуемое вещество. При этом у самок контрольной группы САД и ДАД были на 21,7% и 24,6% выше, по сравнению со значениями до моделирования ЭАГ.

2. При пероральном введении ГЭТПВ в дозе 30 мг/кг оказывает кардиопротекторное действие в условиях экспериментальной ХСН, сопоставимое с препаратом сравнения милдронатом и по некоторым показателями превосходящее его, о чем свидетельствует более высокий прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД, МИФС при проведении функциональных нагрузок- пробы на адренореактивность, нагрузки объемом и максимальной изометрической нагрузки и самый низкий процент гибели по сравнению с животными контрольной группы.

3. ГЭТПВ ограничивает нарушение функции эндотелия при экспериментальной ХСН и АГ, что проявляется в увеличении скорости кровотока в сонных артериях в ответ на введение АЦХ на 43,4 % и снижении его в условиях блокады синтеза NO L-NAME на 40,4% против показателей контрольной группы животных- 21,1% и 27,5% соответственно.

4. ГЭТПВ оказывает выраженное антитромботическое действие, снижает степень и скорость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 21,9% и 19%, концентрацию фактора Виллебранда в плазме крови на 54% и 31,4% у крыс с ЭАГ и ХСН соответственно по сравнению с животными группы контроля. По эффективности исследуемое вещество сопоставимо, а по некоторым показателям превосходит препараты сравнения.

6. В условиях экспериментальной ХСН под действием ГЭТПВ снижается концентрация АМ- на 23,4% и копептина- на 26,4%, сопоставимо с препаратом сравнения милдронатом.

7. ГЭТПВ ограничивает развитие митохондриальной дисфункции у крыс с ХСН, на что указывает повышение V_3 для первого и второго комплексов дыхательной цепи в 1,7 ($p < 0,05$) и в 2,2 раза ($p < 0,05$) соответственно, коэффициента ДК- в 1,8 раза ($p < 0,05$) для I комплекса и в 2 раза ($p < 0,05$) для II комплекса по сравнению с животными с экспериментальной ХСН. При этом концентрация продуктов ПОЛ диеновых конъюгатов и МДА была на 20,4% и 15,9% ($p < 0,05$) соответственно ниже, а активность СОД и каталазы на 56,3% ($p < 0,05$) и 12,7% соответственно выше, чем в контрольной группе.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные о гипотензивном и кардиопротекторном действии ГЭТПВ в условиях ЭАГ и ХСН позволяют считать его перспективным средством для лечения ХСН и АГ.

2. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения ГЭТПВ при ССЗ с целью разработки на его основе нового препарата с гипотензивной и кардиопротекторной активностью.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АД –артериальное давление

АДФ- аденозиндифосфат

АГ- артериальная гипертензия

АМ- адреномедуллин

АОС- антиоксидантная система

АТ III – антитромбин III

АцХ-ацетилхолин

АЧТВ- активированное частичное тромбопластиновое время
ДАД-диастолическое артериальное давление
ГП- глутатионпероксидаза
ГЭТПВ- густой экстракт из травы первоцвета весеннего
ИМ- инфаркт миокарда
МДА- малоновый диальдегид
ПТВ- протромбиновое время
ПТИ – протромбиновый индекс
ПОЛ-перекисное окисление липидов
САД- систолическое артериальное давление
СОД- супероксиддисмутаза
фВ- фактор фон Виллебранда
ФК- функциональный класс
ХСН-хроническая сердечная недостаточность
ЧСС-частота сердечных сокращений
Е-NOS- endothelial NO-synthase
NO-nitric oxide -оксид азота

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активация системы гемостаза у пациентов с хронической сердечной недостаточностью / В.М. Шмелева, О.Н. Семенова, Л.П. Папаян, С.И. Ягашкина // Вестник Санкт—Петербургского университета. Сер. 11. – 2009. — Вып. 1. – С. 37—43.
2. Артериальная гипертензия и дисфункция эндотелия (часть I) / А.А. Попова, С.Д. Маянская, Н.Н. Маянская [и др.] // Вестник современной клинической медицины. – 2009. – Т. 2, Вып. 2. - С. 41—46.

3. Афанасьев, В.В. Милдронат – лечение кардионеврологической патологии в условиях ишемии и гипоксии / В.В. Афанасьев, Н.К. Свиридова // Международный неврологический журнал. – 2014. — № 5 (67). – С. 133—138.
4. Бережной, В.В. Использование фитопрепарата "Бронхипрет" в терапии острого бронхита у детей / В.В. Бережной, Н.П. Гляделова // Современная педиатрия. – 2010. - № 5 (33). – С. 85.
5. Березин, А.Е. Биологические маркеры при хронической сердечной недостаточности: ожидания, реальность, перспективы / А.Е.Березин // Сердечная недостаточность. – 2013. - № 1. – С. 5—15.
6. Варданян, Р.Л. Антиоксидантное действие экстрактов омелы белой (*viscum album l.*), произрастающей на различных деревьях/ Р.Л. Варданян, Л.В. Атабекян // Химический журнал Армении. – 2011. – Т. 64, № 13. – С. 335—343.
7. Варианты гипертрофии левого желудочка при сочетании артериальной гипертензии и стенокардии напряжения / Е.А. Полунина, Д.С. Тарасочкина, И.В. Севостьянова [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 79—85.
8. Взаимосвязь повышения уровня фракталкина и дисфункции сосудистого эндотелия при хронической сердечной недостаточности / Е.А. Полунина, И.В. Севостьянова, Л.П. Воронина [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2014. – № 6. - С. 69—74.
9. Витамины и окислительный стресс / В.Н.Коденцова, О.А. Вржесинская, В.К. Мазо // Вопросы питания. - 2013.-Т.82, №3.-С.11-18.
10. Возможность применения миокардиального цитопротектора в комбинированной терапии больных с хронической сердечной недостаточностью и метаболическим синдромом / М.Е. Стаценко, Е.Д. Евтерева, С.В. Туркина [и др.] // Consilium Medicum. – 2010. – Т. 12, № 10. – С. 76—80.

11. Возможность применения транскраниальной электростимуляции для купирования стресс—индуцированной артериальной гипертензии у студентов ВУЗов / А.Х. Каде, О.Д. Ковальчук, А.Ю. Туровая, Е.А. Губарева // *Фундаментальные исследования*. – 2013. — № 5. – С. 79—81.
12. Государственная фармакопея СССР / МЗ СССР. – 1987, 11 -е изд., доп. – Вып. 1: Общие методы анализа. – С. 336.
13. Государственный отраслевой стандарт 3166—76. Листья первоцвета весеннего. Технические требования на продукцию, поставляемую на экспорт. – Взамен ГОСТ 3166—46; введ. 01.07.1977. – М., 1977. – С. 51–53.
14. Денискин, В.В. Экономические аспекты использования пищевых добавок в производстве продуктов питания / В.В. Денискин // *Казанская наука*. – 2012. – № 11. – С. 84–86.
15. Дзяк, Г.В. Блокада ренин—ангиотензин—альдостероновой системы как краеугольный камень лечения хронической сердечной недостаточности. Блокада / Г.В. Дзяк, Л.И. Васильева // *Актуальные вопросы лечения и профилактики сердечной недостаточности*. – 2009. - № 1. – С. 18—30.
16. Диагностическая ценность биохимических маркеров у пациентов с хронической сердечной недостаточностью со сниженной пограничной и сохраненной фракцией выброса левого желудочка / Е.В. Базаева, Р.П. Мясников, В.А. Метельская, С.А. Бойцов // *Кардиология*. – 2017. – Т. 57, № 3. – С. 39—45.
17. Диагностика и спорные вопросы лечения сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса / З.М. Ахильгова, М.В. Куркина, З.Р.Джигоева [и др.] // *Кардиосоматика*.- 2018.- Т. 9, № 4.- с.32-37.
18. Доплерографическое изучение эндотелиальной дисфункции церебральных сосудов крыс при недостаточности половых гормонов / И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, А.И. Робертус [и др.] // *Регионарное*

- кровообращение и микроциркуляция. — 2007. — Т. 21, № 1. — С. 175—176.
19. Драпкина, О.М. Новые акценты в изучении патогенеза хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса: фокус на маркеры воспаления / О.М. Драпкина, Л.О. Палаткина // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. — 2014. — Т. 10, № 3. — С. 317—321.
20. Заирова, А.Р. Вазомоторная эндотелиальная дисфункция у молодых мужчин с артериальной гипертензией 1 степени / А.Р. Заирова, Е.В. Ощепкова // Кардиология. — 2013. — Т. 53, № 7. — С. 24—30.
21. Значение фармакогнозии для провизора / В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Сухомлинов, Ю.А. Кондратова, А.Н. Дубинина // Материалы Всероссийской научно—практической конференции с международным участием, посвященной 45—летию фармацевтического факультета КГМУ, 27 октября 2011 г., Казань. — Казань, 2011. — С. 363—366.
22. Иванов, С.Г. Роль оксидативного стресса в развитии и прогрессировании хронической сердечной недостаточности: актуальность и возможность его коррекции / С.Г. Иванов, М.Ю. Ситникова, Е.В. Шляхто // Кардиология СНГ. — 2006. — № 4. — С. 267—270.
23. Изучение ангиопротекторной активности растительного экстракта из травы первоцвета весеннего / Д.Ф. Иванова, Г.М. Латыпова, Г.Р. Иксанова, М.А. Быченкова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2013. — № 5. — С. 190.
24. Исследование качественного и количественного состава флавоноидных соединений густого экстракта первоцвета лекарственного / Г.М. Латыпова, З.Р. Романова, В.Н. Бубенчикова [и др.] // Химия растительного сырья. — 2009. — № 4. — С. 113—116.
25. Зависимость между антиоксидантным действием флавоноидов и их влиянием на вазодилатирующую функцию эндотелия в условиях эндотелиальной дисфункции / И.Н. Тюренков, А.В. Воронков, А.А.

- Слиецанс [и др.]//Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2010.-Т.73, №10.-С.14-16.
- 26.К изучению новых фармакологических свойств растительного экстракта и травы первоцвета весеннего / Г.М. Латыпова, Г.Р. Иксанова, Д.Ф. Иванова // Традиционная медицина. — 2014. — № 4 (39). — С. 14—16.
- 27.Камилова, У.К. Изучение показателей эндотелиальной дисфункции и окислительного стресса у больных с хронической сердечной недостаточностью / У.К. Камилова, Ч.А. Абдуллаева // Eurasian J. Int. Med. — 2014. — Т. 1, № 1. — С. 44—46.
- 28.Киселева, Т.Л. Роль института гомеопатии и натуротерапии в развитии фитотерапии в России / Т.Л. Киселева, А.А. Карпеев // Здравоохранение. – 2009. – № 7. – С. 12—16.
- 29.Клинические рекомендации ОССН – РКО – РНМОТ. Сердечная недостаточность: хроническая (ХСН) и острая декомпенсированная (ОДСН). Диагностика, профилактика и лечение/ В.Ю.Мареєв, И.В. Фомин, Ф.Т. Агеев [и др.]// Кардиология. -2018.- Т.58, №S6.-С.8-164
- 30.Клиническое значение серийного определения активности современных биомаркеров у больных после декомпенсации сердечной недостаточности: роль sST2 и NT—proBNP при длительном наблюдении / А.А. Скворцов, О.Ю. Нарусов, М.Д. Муксинова [и др.] // Кардиология. – 2018. – Т. 58, № 12. – С. 27—41.
- 31.Козловский, В.И. Расстройства микроциркуляции у больных артериальной гипертензией / В.И. Козловский, О.П. Сероухова // Вестник ВГМУ. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 1—11.
- 32.Контроль перекисного окисления липидов / В.Н. Ушкалова, Н.В. Иоанидис, Г.Д. Кадочникова, З.М. Деева. — Новосибирск: Изд—во НГУ, 1993. — 181 с.

33. Корреляция эндотелиальной дисфункции с течением артериальной гипертонии в подростковом возрасте / И.В. Плотникова, И.А. Ковалев, Т.Е. Сулова, В.В. Безляк // Кардиология. – 2015. – Т. 55, № 3. – С. 21—6.
34. Корягина, Н.А. Функциональное состояние эндотелия у женщин в менопаузе, имеющих артериальную гипертензию / Н.А. Корягина // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Сер. Естественные и Технические науки. – 2012. - № 4—5. – С.66-71.
35. Краткая энциклопедия современной фитотерапии с основами гомеопатии: справочник практического врача / Т.Л. Киселева, Ю.А. Смирнова, И.Л. Блинков [и др.]. — М.: Изд—во Профессиональной ассоциации натуротерапевтов, 2010. – 592 с.
36. Куликов, В.А. Фремингемское исследование сердца: 65 лет изучения причин атеросклероза / В.А. Куликов // Вестник ВГМУ. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 16—24.
37. Ларина, В.Н. Диагностика и лечение хронической сердечной недостаточности (по рекомендациям Европейского общества кардиологов по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности 2016 г.) / В.Н. Ларина, И.И. Чукаева // Лечебное дело. – 2016. - № 3. - С. 37—48.
38. Латыпова, Г.М. Разработка методики количественного определения флавоноидов в сырье первоцвета весеннего / Латыпова Г.М., Романова З.Р., Бубенчикова В.Н., Катаев В.А. // Башкирский химический журнал. – 2007. – Т. 14, № 5. – С. 67-69.
39. Латыпова, Г.М. Экспериментально—теоретическое обоснование рационального использования растений рода *Primula*L. и рода *Humulus*L.: автореф. дис. ... д—ра фармац. наук: 14.04.02 / Латыпова Гузель Минулловна. – Самара, 2015. – 46 с.

40. Лебедева, М.В. Особенности кашля у детей дошкольного возраста, посещающих детский сад и находящихся на дому, и его лечение / М.В. Лебедева // Лечащий врач. – 2013. - № 8. – С. 44.
41. Лубсандоржиева, П.Б. Антиоксидантная активность экстрактов *Calendula officinalis* L./ П.Б. Лубсандоржиева // Химия растительного сырья. - 2009.- №4.- С. 123–126.
42. Маркёры воспалительной реакции (с—реактивный белок и интерлейкин—6) при артериальной гипертензии / Н.В. Вострикова, Д.В. Фёдоров, А.Н. Мамаев [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2009. — № 4, Вып. 1. – С. 33—35.
43. Медведев, Н.В. Значение возрастных предикторов хронической сердечной недостаточности в определении риска смерти у пожилых пациентов с артериальной гипертензией / Н.В. Медведев, Н.К. Горшунова // Успехи геронтологии. – 2014. – Т. 27, № 1. – С. 129—33.
44. Мелехов, А.В. Хроническая сердечная недостаточность / А.В. Мелехов, Ю.И. Островская // Атмосфера. Новости кардиологии. – 2017. - № 4. – С. 30—35.
45. Меликов, Ф.М. Фитотерапия сердечно—сосудистых заболеваний психогенной природы / Ф.М. Меликов // Бюллетень ГНБС. - 2014. - Вып. 114. – С. 38—43.
46. Мельдоний: эффективные точки применения. / А.Л. Верткин, Н.О. Ховасова, В.В. Пшеничникова [и др.]// Кардиоваскулярная терапия и профилактика. -2013.- Т.12, №2.-С. 94-97.
47. Метаболические нарушения и функция эндотелия при диастолической ХСН в разных возрастных группах / И.А. Сукманова, Д.А. Яхонтов, Т.И. Пospelова // Сердечная Недостаточность. – 2010. – Т. 11, № 2 (58). – С. 116—119.
48. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабораторное дело. - 1988. - № 4. - С. 44-47.

49. Методы диагностики эндотелиальной дисфункции / А.Н. Иванов, А.А. Гречихин, И.А. Норкин, Д.М. Пучиньян // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2014. – Т. 13, № 4 (52). – С. 4—11.
50. Милдронат в кардиологической практике – итоги, новые направления, перспективы / В.П. Михин, Ю.М. Поздняков, Ф.Е. Хлебодаров, О.Н. Кольцова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – Т. 11, № 1. – С. 95—102.
51. Михин, В.П. Перспективы применения милдроната у больных с сердечно—сосудистой патологией / В.П. Михин, Ф.Е. Хлебодаров // Российский кардиологический журнал. – 2010. – № 4 (84). – С. 158—168.
52. Михин, В.П. Цитопротекция в кардиологии: достижения и перспективы / В.П. Михин // Кардиология. – 2015. – Т. 55, № 10. – С. 90—95.
53. Моин, В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В.М. Моин // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 12-16.
54. Молекулярные основы развития и прогрессирования хронической сердечной недостаточности в пожилом и старческом возрасте / К.И. Прощаев, А.Н. Ильницкий, В.И. Бессарабов [и др.] // Молекулярная медицина. – 2012. – № 6. – С. 60-63.
55. Морфофункциональные показатели левого желудочка сердца крыс в изопротеренол—флуоксетиновой модели хронической сердечной недостаточности / Т.М. Мазитов, Р.Р. Нигматуллина, Р.Р. Исламов // Успехи современного естествознания. – 2013. — № 6. — С. 44—49.
56. Национальные рекомендации ВНОК И ОССН по диагностике и лечению ХСН (третий пересмотр) // Сердечная недостаточность. – 2010. – Т. 11, № 1 (57). — С. 3—62.
57. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр)/В.Ю. Мареев, Ф.Т. Агеев, Г.П.

- Арутюнов и [и др.]// Журнал Сердечная Недостаточность. -2013.-Т.14, №7 (81). – С.379-472.
- 58.Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 33044—2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1700—ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33044—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 г. Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD Guide 1:1998 OECD Principles of good laboratory practice.
- 59.Нейроэндокринные маркеры хронической сердечной недостаточности: значение для диагностики и прогнозирования / Ю.В. Лискова, М.В. Столбова, А.А. Стадников // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 319.
- 60.Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов / З.А. Габбасов, Е.Г. Попов, И.Ю. Гаврилов [и др.] // Лабораторное дело. — 1989. — № 10.— С. 15—18.
- 61.Оконько, Д.О. Сердечная недостаточность: митохондриальная дисфункция и окислительный стресс при ХСН / Д.О. Оконько, А.М. Шах// Nat. Rev. Cardiol. - 2015. – Т. 12, № 1. – С. 6—8. doi: 10.1038 / nrcardio.2014.189.
- 62.Окислительный стресс – роль в патогенезе хронической сердечной недостаточности, возможности коррекции / Л. О. Палаткина, О.Н. Корнеева, О.М. Драпкина // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – Т. 11, № 6. – С. 91—94.
- 63.Оксидативный стресс при хронической сердечной недостаточности. Возможности фармакологической коррекции / Ю.Н. Беленков, Е.В. Привалова, Ю.А. Данилогорская [и др.] // Кардиология и сердечно—соудистая хирургия. – 2009. - № 1. – С. 4—9.

64. Орлов, Ю.П. Роль сукцината при критических состояниях / Ю.П. Орлов, Н.В. Говорова // *Общая реаниматология*. - 2014. - № 6. - С. 65—78.
65. Патогенез хронической сердечной недостаточности: эволюция представлений / Л.В. Савченкова, И.П. Белоусова, Т.В. Афолина // *Журнал академии медицинских наук Украины*. - 2007. - Т. 13, № 2. - С. 216—229.
66. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии / Т.В. Самбукова, Б.В. Овчинников, В.П. Ганапольский [и др.] // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. - 2017. - Т. 15, № 2. - С. 56-63.
67. Подзолков, В.И. Динамика биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции у больных с артериальной гипертензией / В.И. Подзолков, А.И. Тарзиманова // *Кардиология*. - 2016. - Т. 56, № 8. - С. 28—32.
68. Препарат синупрет в лечении острого синусита у детей / Н.Л. Кунельская, А.Ю. Ивойлов, И.И. Архангельская // *Русский медицинский журнал*. - 2012. - Т. 20, № 27. - С. 1352—1354.
69. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 9 ноября 2012 г. № 708н "Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при первичной артериальной гипертензии (гипертонической болезни)".
70. Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н "Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики". - М., 2016.
71. Применение препарата кардионат в комбинированной терапии хронической сердечной недостаточности ишемической этиологии у больных с метаболическим синдромом / М.Е. Стаценко, С.В. Туркина, Е.Д. Евтерева [и др.] // *Русский кардиологический журнал*. - 2010. - № 4 (84). - С. 35—39.

72. Пристром, А.М. Оксидативный стресс и сердечно—сосудистые заболевания / А.М. Пристром, М. Бенхамед // Лечебное дело. – 2012. – № 1 (23). – С. 21—28.
73. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопросы медицинской химии. – 1990. – Т. 36, № 2. – С. 88—91.
74. Распространенность и факторы риска, связанные с гипертонией при болезни Виллебранда/ М.Х. Апостолова, С.Д. Моряк, Д.М. Комер [и др.]// Клинический и прикладной тромбоз. – 2018. – Т. 24, № 1. – С. 93—99. doi: 10.1177 / 1076029616670258.
75. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2009. – Т. 2. Семейства Actinidiaceae—Malvaceae, Euphorbiaceae—Haloragaceae. – 513 с.
76. Регистр лекарственных средств России, 2018.
77. Рекомендации по лечению больных с артериальной гипертензией: Рабочая группа по лечению артериальной гипертензии Европейского общества кардиологов (ЕОК, ESC) и Европейского общества по артериальной гипертензии (ЕОАГ, ESH), 2018 / Bryan Williams et al. // Российский кардиологический журнал. – 2018.- Т.23, №12.- С. 143-228.
78. Ремоделирование размеров левых отделов сердца при артериальной гипертензии, стенокардии напряжения и при их сочетании / Д.С. Митрохина, Е.А. Полунина, О.С. Полунина [и др.] // Астраханский медицинский журнал. — 2014. — Т. 9, № 3. — С. 31—38.
79. Роль биологически активных добавок в жизни современного человека / Е.А. Никитина, Л.И. Карушина, Л.С. Василевская, Л.Г. Игнатенко // Вопросы здорового и диетического питания. – 2011. – № 8. – С. 56–64.

80. Романова, З.Р. Фармакогностическое исследование первоцвета весеннего и первоцвета крупночашечного: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 / Романова Земфира Рашитовна. – Курск, 2010. – 28 с.
81. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под общ. ред. д.м.н. А.Н.Миронова. – М.: Гриф и К, 2012. – Ч. I. — С. 80—93.
82. Сергалиева, М.У. Астрагал лисий (ASTRAGALUS VULPINUS WILLD) -источник биологически активных веществ/ М.У. Сергалиева, Н.А. Барскова // Астраханский медицинский журнал. – 2017. - № 1. – С. 56—63.
83. Современные метаболические кардиоцитопротекторы. Технологические аспекты разработки лекарственных препаратов на их основе / А.А.Теслев, В.В.Сорокин, С.А.Минина и [др]// Научные ведомости. Серия фармация, медицина. - 2014. - №4(175). - выпуск 25. - С.188-195.
84. Сравнительное влияние бета-блокаторов различных групп (анаприлин, атенолол, небилет) на содержание катехоламинов и 11-оксикортикостероидов у крыс с экспериментальной хронической сердечной недостаточностью/ О.В. Смирнова, В.Н. Федоров, А.Л. Хохлов // Российский кардиологический журнал. - 2002.-№1.-С. 56-58.
85. Средство растительного происхождения, обладающее антиоксидантной активностью: пат. 2342942 Рос. Федерация, МПК51 А61К 36/185, А61Р 39/06 / Г.М.Латыпова, З.Р. Романова, Г.В. Соколов [и др.]; заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО БГМУ Росздрава. – № 2007144096/15; заявл. 16.11.07; опубл. 10.01.09, Бюл. № 1. – 8 с.
86. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили// Современные методы в биохимии. - М.: Медицина; 1977. - С. 66-69.

- 87.Сыволап, В.В. Антитромбоцитарная терапия и хроническая сердечная недостаточность / В.В. Сыволап, М.Ю. Колесник // Внутренняя медицина. – 2007. - Т. 6, № 6.
- 88.Танатарова, Г.Н. Оптимизация лечения эндотелиальной дисфункции при хронической сердечно недостаточности / Г.Н. Танатарова // International journal on immunorehabilitation. – 2010. - Т. 12, № 2. – С. 143b.
- 89.Технология густого экстракта из травы первоцвета весеннего / Г.М. Латыпова, Р.Я. Давлетшина, В.Н. Бубенчикова, З.Р. Романова // Научные ведомости. Сер. Медицина. Фармация. - 2011. - № 16 (111), Вып. 15. – С. 226—231.
- 90.Тюренков, И.Н. Сравнительная эффективность применения милдроната, мексидола и триметазидина при хронической сердечной недостаточности, вызванной окклюзией нисходящей ветви левой коронарной артерии/ И.Н.Тюренков, В.Н.Перфилова, Д.Д.Бородин // Волгоградский научно-медицинский журнал. - 2011.- №4. -С.20-25.
- 91.Тюренков, И.Н. Методические рекомендации по доклиническому изучению кардиотонической активности лекарственных средств / И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова; ред. А.Н. Миронов. – М., 2012. - С. 375—384.
- 92.Фактор фон виллебранда и толщина комплекса интима—медиа сонных артерий у больных артериальной гипертензией / Н.Х. Резяпова, Н.Н. Крюков, Г.И. Киселева // Казанский медицинский журнал. - 2010. – Т. 91, № 4. – С. 442—444.
- 93.Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений/ В.А. Куркин, А.В.Куркина, Е.В. Авдеева // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 11-9. – С. 1897-1901.
- 94.Флавоноиды лекарственных растений: прогноз антиоксидантной активности / В.А. Куркин, В.В. Поройков, А.В. Куркина [и др.] //

- Современные проблемы науки и образования. – 2015. - № 2. – С. 517—523.
95. Фролова, Э.Б. Современное представление о хронической сердечной недостаточности / Э.Б. Фролова, М.Ф. Яушев // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6, Вып. 2. – С. 87—93.
96. Чазова, И.Е. Борьба с сердечно—сосудистыми заболеваниями: проблемы и пути их решения на современном этапе / И.Е. Чазова, Е.В. Ощепкова // Вестник Росздравнадзора. – 2015. - № 5. – С. 7—10.
97. Чекман, И.С. Растительные лекарственные средства / И.С. Чекман, Г.Н. Липкан. – Киев: Колос, 1993. – 384 с.
98. Энерготропное, антигипоксическое и антиоксидантное действие флавоноидов / Л.Д. Лукьянова, Л.Д. Лукьянова, Э.Л. Германова, А.И. Лыско // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2007.-№2.- С.55-62.
99. Эффект урсодезоксихолевой кислоты у больных хронической сердечной недостаточностью. Двойное слепое рандомизированное плацебоконтролируемое перекрестное исследование из «Journal of the American College of cardiology» / С. Schefold, S. von Haehling, E.A. Jankowska [et al.] // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2012. – Т. 8, № 1. – С. 110—117.
100. Эффективность милдроната при экспериментальной ишемии миокарда у крыс разного возраста / В.Г. Кукес, Н.И. Жернакова, Т.В. Горбач [и др.] // Актуальные вопросы фармакологии. Вестник РАМН.-2013.- № 1.-С. 42-46.
101. Эффективность муколитической терапии при острых респираторных заболеваниях у детей / Н.А. Геппе, М.В. Глухова, А.Р. Денисова [и др.] // Доктор.Ру. – 2015. – № 13 (114). – С. 59—63.
102. Эффективность применения мельдония в комплексном лечении пациентов с декомпенсацией хронической сердечной недостаточности/

- A.C.Сычева, С.В.Царегородцев, А.Л.Кебина, А.Л. Верткин// Лечащий врач.- 2019.-№ 2.-С.11-14.
103. A Central Role for Monocyte—Platelet Interactions in Heart Failure / N. Glezeva, J.F. Gilmer, C.J. Watson, M. Ledwidge // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* – 2016. – Vol. 21, № 3. – P. 245—61. doi: 10.1177/1074248415609436.
104. Acute impact of conventional and eccentric cycling on platelet and vascular function in patients with chronic heart failure / A. Haynes, M.D. Linden, L.C. Chasland [et al.] // *J. Appl. Physiol.* – 2017. – Vol. 122, № 6. – P. 1418—1424. doi: 10.1152/jappphysiol.01057.2016.
105. Adrenomedullin: Continuing to explore cardioprotection / T. Tsuruda, J. Kato, K. Kuwasako, K. Kitamura // *Peptides.* - 2018. - pii: S0196—9781(18)30061—5. doi: 10.1016/j.peptides.2018.03.012.
106. Aiba, T. Electrical remodeling in the failing heart / T. Aiba, G.F. Tomaselli // *Curr. Opin. Cardiol.* – 2010. – Vol. 25. – P. 29–36.
107. Alamgeer, I.S. Evaluation of antihypertensive potential of *Ficus carica* fruit / I.S. Alamgeer, H. Asif, M. Saleem // *Pharm. Biol.* – 2017. – Vol. 55, № 1. – P. 1047—1053. doi: 10.1080/13880209.2017.1278611.
108. Analysis of Phenolic Compounds in Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*) with a Comparison of Flavonoid—Based Compounds in Natural Populations of Plants from Different Regions / M.A. Stander, B.E. Van Wyk, M.J.C. Taylor [et al.] // *J. Agric Food Chem.* – 2017. – Vol. 65, № 47. – P. 10270—10281. doi: 10.1021/acs.jafc.7b03942.
109. Analysis of phenolic glycosides and saponins in *Primula elatior* and *Primula veris* (primula root) by liquid chromatography, evaporative light scattering detection and mass spectrometry / A. Mueller, M. Ganzera, H. Stuppner // *J. Chromatogr. A.* – 2006. – № 1112. – P. 218–223.
110. Antihypertensive and vasorelaxant effects of aqueous extract of *Artemisia campestris* L. from Eastern Morocco / I. Dib, M. Tits, L. Angenot

- [et al.] // *J. Ethnopharmacol.* – 2017. – Vol. 206. – P. 224—235. doi: 10.1016/j.jep.2017.05.036
111. Association of polymorphism 4a/4b and 4b/4b in endothelial nitric oxide synthase gene and markers of endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure / E.A. Polunina, L.P. Voronina, I.V. Sevostyanova [et al.] // *Kardiologiya*. – 2018. – Suppl. 4. – P. 4—9.
112. Associations between blood coagulation markers, NT—proBNP and risk of incident heart failure in older men: The British Regional Heart Study / S.G. Wannamethee, P.H. Whincup, O. Papacosta [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2017. – № 230. – P. 567—571. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.12.056.
113. Association between psychosocial stress and hypertension: a systematic review and meta-analysis/ M.Y. Liu, N.Li, W.A. Li., H. Khan/ *Neurol. Res.* -2017.- Vol. 39, №6. P.573-580. doi: 10.1080/01616412.2017.1317904.
114. ATP—dependent potassium channels and mitochondrial permeability transition pores play roles in the cardioprotection of theaflavin in young rat / H. Ma, X. Huang, Q. Li [et al.] // *J. Physiol. Sci.* – 2011. – Vol. 61. – P. 337–342.
115. Balling, L. Copeptin as a biomarker in heart failure / L. Balling, F. Gustafsson // *Biomark. Med.* – 2014. – Vol. 8, № 6. – P. 841—54. doi: 10.2217/bmm.14.50.
116. Bayeva, M. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage to sarcomeric proteins / M. Bayeva, H. Ardehali // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2010. – № 12. – P. 426–432.
117. Bell, D.S.H. Heart Failure in the diabetic patient — epidemiology, etiology, prognosis, therapy and the effect of glucose lowering medications / D.S.H. Bell, E. Goncalves // *Diabetes Obes. Metab.* — 2019. doi: 10.1111/dom.13652.
118. Benefit—Risk Assessment of Crataegus Extract WS 1442: An Evidence—Based Review / C.J.F. Holubarsch, W.S. Colucci, J. Eha // *Am.*

- J. Cardiovasc. Drugs. – 2018. – Vol. 18, № 1. – P. 25—36. doi: 10.1007/s40256—017— 0249—9.
119. Bers, D.M. Cardiac myocytes Ca²⁺ and Na⁺ regulation in normal and failing hearts / D.M. Bers, S. Despa // J. Pharmacol. Sci. – 2006. – Vol. 100. – P. 315–322.
120. Bioassay of Rauwolfia roots and alkaloids / B. Rubin, M.H. Malone, M.H. Waugh, J.C. Burke // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1957. – Vol. 120, № 2. – P. 125—36.
121. Blood Pressure and Fibrinogen Responses to Mental Stress as Predictors of Incident Hypertension over an 8—Year Period / A. Steptoe, M. Kivimäki, G. Lowe [et al.] // Ann. Behav. Med. – 2016. – Vol. 50, № 6. – P. 898—906.
122. Boghdady, N.A. Antioxidant and antiapoptotic effects of proanthocyanidin and ginkgo biloba extract against doxorubicin—induced cardiac injury in rats / N.A. Boghdady // Cell Biochem. Funct. – 2013. – Vol. 31, № 4. – P. 344—51. doi: 10.1002/cbf.2907.
123. Boysenberry polyphenol inhibits endothelial dysfunction and improves vascular health / R. Furuuchi, I. Shimizu, Y. Yoshida [et al.] // PLoS One. – 2018. – Vol. 13, № 8. – P. e0202051. doi: 10.1371/journal.pone.0202051.
124. Brand, M.D. Assessing mitochondrial dysfunction in cells / M.D. Brand, D.G. Nicholls // Biochem. J. – 2011. – Vol. 435. – P. 297—312.
125. Braschi, A. Potential Protective Role of Blood Pressure—Lowering Drugs on the Balance between Hemostasis and Fibrinolysis in Hypertensive Patients at Rest and During Exercise / A. Braschi // Am. J. Cardiovasc. Drugs. — 2019. doi: 10.1007/s40256—018—00316—2.
126. Cardiac glycosides from the bark of *Antiaris toxicaria* / X.S. Li, M.J. Hu, J. Liu [et al.] // Fitoterapia. – 2014. – Vol. 97. – P. 71—7. doi: 10.1016/j.fitote.2014.05.013.

127. Cardiac Glycosides from the Seeds of *Thevetia peruviana* / D.M. Tian, H.Y. Cheng, M.M. Jiang [et al.] // *J. Nat. Prod.* – 2016. – Vol. 79, № 1. – P. 38—50. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b00611.
128. Cardiac—Specific Bdh1 Overexpression Ameliorates Oxidative Stress and Cardiac Remodeling in Pressure Overload—Induced Heart Failure / M. Uchihashi, A. Hoshino, Y. Okawa [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2017. – Vol. 10, № 12. – P. e004417. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.117.004417.
129. Carnosic Acid and Carnosol, Two Major Antioxidants of Rosemary, Act through Different Mechanisms/ M.Loussouarn, A.Krieger-Liszkay, L.Svilar [et al.]// *Plant Physiology.*- 2017.- Vol.175.- P.1381–1394.
130. *Catharanthus roseus* Aqueous Extract is Cytotoxic to Jurkat Leukaemic T-cells but Induces the Proliferation of Normal Peripheral Blood Mononuclear Cells/ N.H Ahmad, R.A. Rahim, I. Mat // *Trop Life Sci Res.* - 2010.- Vol. 21, №2. P.101-113.
131. Chahine, J. Left Ventricular Failure / StatPearls [Internet] / J. Chahine, H. Alvey. — Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2018.
132. Characterization and history of arterial hypertension leading to inpatient treatment / C.P. Bramlage, M. Nasiri—Sarvi, J. Minguet [et al.] // *BMC Res. Notes.* – 2016. – Vol. 9, № 1. – P. 480.
133. Chronic heart failure — new insights / S. Ewen, A. Nikolovska, I. Zivanovic [et al.] // *Dtsch Med. Wochenschr.* – 2016. – Bd. 141, № 21. – P. 1560—1564.
134. Clinical Significance of Endothelial Dysfunction in Essential Hypertension / E. Gkaliagkousi, E. Gavriilaki, A. Triantafyllou, S. Douma // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2015. – Vol. 17, № 11. – P. 85. doi: 10.1007/s11906—015—0596—3.
135. Clinical uses of rauwolfia. I. In arterial hypertension / J. Genest, L. Adamkiewicz, R. Robillard, G. Tremblay // *Can Med Assoc J.* - 1955. – Vol.1, №72(7). - P.483-491.

136. Coats, A. Protective effects of nebivolol from oxidative stress to prevent hypertension-related target organ damage/ A. Coats, S.Jain // *J Hum Hypertens.* - 2017.- Vol. 31, №6.-P.376-381.
137. Colalto, C. What phytotherapy needs: Evidence—based guidelines for better clinical practice / C. Colalto // *Phytother. Res.* – 2018. – Vol. 32, № 3. – P. 413—425. doi: 10.1002/ptr.5977.
138. Comparative analysis of von Willebrand factor profiles after implantation of left ventricular assist device and total artificial heart / H.J. Reich, J. Morgan, F. Arabia [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2017. – Vol. 15, № 8. – P. 1620—1624. doi: 10.1111/jth.13753.
139. Comparative Metabolite Profiling of Triterpenoid Saponins and Flavonoids in Flower Color Mutations of *Primula veris* L. / L. Apel, D.R. Kammerer, F.C. Stintzing, O. Spring // *Int. J. Mol. Sci.* – 2017. – Vol. 18, № 1. – P. E153. doi: 10.3390/ijms18010153.
140. Connecting heart failure with preserved ejection fraction and renal dysfunction: the role of endothelial dysfunction and inflammation / J.M. Ter Maaten, K. Damman, M.C. Verhaar [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2016. – Vol. 18, № 6. – P. 588—98. doi: 10.1002/ejhf.497.
141. Copeptin in acute coronary syndromes and heart failure management: State of the art and future directions / G. Schurtz, N. Lamblin, C. Bauters [et al.] // *Arch. Cardiovasc. Dis.* – 2015. – Vol. 108, № 6—7. – P. 398—407. doi: 10.1016/j.acvd.2015.04.002.
142. Copeptin (C—terminal pro arginine—vasopressin) is an independent long—term prognostic marker in heart failure with reduced ejection fraction / Z. Pozsonyi, Z. Förhécz, T. Gombos [et al.] // *Heart Lung Circ.* – 2015. – Vol. 24, № 4. – P. 359—67. doi: 10.1016/j.hlc.2014.10.008.
143. *Crataegus* special extract WS 1442: up—to—date review of experimental and clinical experiences / M. Zorniak, B. Szydło, T.F. Krzeminski // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2017. – Vol. 68, № 4. – P. 521—526.

144. C—terminal provasopressin (copeptin) is a strong prognostic marker in patients with heart failure after an acute myocardial infarction: results from the OPTIMAAL study / A.A. Voors, S. von Haehling, S.D. Anker [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2009. – Vol. 30. – P. 1187–1194. doi:10.1093/eurheartj/ehp098
145. Cunard, R. Endoplasmic Reticulum Stress, a Driver or an Innocent Bystander in Endothelial Dysfunction Associated with Hypertension/ R Cunard// *Curr Hypertens Rep.* – 2017. Vol.19. –P.64 DOI 10.1007/s11906-017-0762-x
146. Curcumin supplementation improves vascular endothelial function in healthy middle-aged and older adults by increasing nitric oxide bioavailability and reducing oxidative stress / J.R.Santos-Parker, T.R.Strahler, C.J.Bassett [et al.]// *Aging (Albany NY).*- 2017.- Vol.9, №1.- P.187–205.
147. Curcumin inhibits cardiac hypertrophy and improves cardiovascular function via enhanced Na⁺/Ca²⁺ exchanger expression after transverse abdominal aortic constriction in rats / X.J. Bai, J.T. Hao, J. Wang [et al.]// *Pharmacol. Rep.* – 2018. – Vol. 70, № 1. – P. 60—68. doi: 10.1016/j.pharep.2017.07.014.
148. Depression and markers of inflammation as predictors of all—cause mortality in heart failure / P.M.C. Mommersteeg, R.G. Schoemaker, P.J.W. Naudé [et al.] // *Brain Behav. Immun.* – 2016. – Vol. 57. – P. 144—150. doi: 10.1016/j.bbi.2016.03.012.
149. Depression increases the risk of hypertension incidence: a meta-analysis of prospective cohort studies / L.Meng, D. Chen, Y. Yang [et al.] // *J Hypertens.* -2012.- Vol.30, №5.- P.842-851. doi: 10.1097/HJH.0b013e32835080b7.
150. Effects of Polyphenols on Oxidative Stress—Mediated Injury in Cardiomyocytes / R. Mattera, M. Benvenuto, MG Giganti [et al.] // *Nutrients.* — 2017. – Vol. 9, № 5. – P. E523. doi: 10.3390/nu9050523.

151. Effects of total flavonoids of propolis on apoptosis of myocardial cells of chronic heart failure and its possible mechanism in rats / H.H. Wang, J. Zeng, H.Z. Wang [et al.] // *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi.* – 2015. – Vol. 31, № 3. – P. 201—6.
152. Effects of Xin—Ji—Er—Kang on heart failure induced by myocardial infarction: Role of inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction / J. Hu, P. Cheng, G.Y. Huang [et al.] // *Phytomedicine.* – 2018. – Vol. 42. – P. 245—257. doi: 10.1016/j.phymed.2018.03.036.
153. Effects of hawthorn (*Crataegus pentagyna*) leaf extract on electrophysiologic properties of cardiomyocytes derived from human cardiac arrhythmia—specific induced pluripotent stem cells / S. Pahlavan, M.S. Tousi, M. Ayyari [et al.] // *FASEB J.* – 2018. – Vol. 32, № (3). – P. 1440—1451. doi: 10.1096/fj.201700494RR.
154. El Boghdady, N.A. Antioxidant and antiapoptotic effects of proanthocyanidin and ginkgo biloba extract against doxorubicin- induced cardiac injury in rats / N.A. El Boghdady // *Cell Biochem. Function.* – 2013. — Vol. 31, Issue 4. – P. 344—351.
155. Elevated Inflammatory Plasma Biomarkers in Patients With Fabry Disease: A Critical Link to Heart Failure With Preserved Ejection Fraction / H. Yogasundaram, A. Nikhanj, B.N. Putko [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2018. – № 7 (21). – P. e009098. doi: 10.1161/JAHA.118.009098.
156. Endothelial dysfunction and abnormal vascular structure are simultaneously present in patients with heart failure with preserved ejection fraction / S. Kishimoto, M. Kajikawa, T. Maruhashi [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2017. – Vol. 231. – P. 181—187. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.01.024.
157. Endothelial dysfunction as assessed with magnetic resonance imaging — A major determinant in chronic heart failure / S. Kovačić, Ž. Plazonić, T. Batinac [et al.] // *Med. Hypotheses.* – 2016. – Vol. 90. – P. 76—78. doi: 10.1016/j.mehy.2016.03.006.

158. Endothelial dysfunction in human essential hypertension / I. Mordi, N. Mordi, C. Delles, N. Tzemos // *J. Hypertens.* – 2016. – Vol. 34, № 8. – P. 1464—1472. doi: 10.1097/HJH.0000000000000965.
159. Endothelial Function in Hypertension: Victim or Culprit? / C. Bleakley, P.K. Hamilton, R. Pumb [et al.] // *J. Clin. Hypertens.* (Greenwich). – 2015. – Vol. 17, № 8. – P. 651—4. doi: 10.1111/jch.12546.
160. Endothelial Senescence Contributes to Heart Failure With Preserved Ejection Fraction in an Aging Mouse Model / A.B. Gevaert, H. Shakeri, A.J. Leloup [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2017. – Vol. 10, № 6. – P. e003806. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAIL-URE.116.003806.
161. Endothelial—driven increase in plasma thrombin generation characterising a new hypercoagulable phenotype in acute heart failure / B. Popovic, F. Zannad, H. Louis [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2019. – № 274. – P. 195—201. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.07.130.
162. Evaluation of antihypertensive potential of *Ficus carica* fruit / Alangeer, S. Iman, H. Asif, M. Saleem // *Pharm. Biol.* – 2017. – Vol. 55, № 1. – P. 1047—1053. doi: 10.1080/13880209.2017.1278611.
163. Forstermann, U. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menac / U. Forstermann, T. Munzel // *Circulation.* – 2006. – Vol. 113. – P. 1708—1714.
164. Gál, R. The role of oxidative stress in heart failure / R. Gál, R. Halmosi // *Orv. Hetil.* – 2015. – Vol. 156, № 47. – P. 1916—20. doi: 10.1556/650.2015.30301.
165. Genistein protects female nonobese diabetic mice from developing type 1 diabetes when fed a soy— and alfalfa—free diet / T.L. Guo, D.R. Germolec, J.F. Zheng [et al.] // *Toxicol. Pathol.* – 2015. – Vol. 43, № 3. – P. 435—448. doi: 10.1177/0192623314526318.
166. Greenberg, B. Novel Therapies for Heart Failure— Where Do They Stand? / B. Greenberg // *Circ. J.* – 2016. – Vol. 80, № 9. – P. 1882—1891. doi: 10.1253/circj.CJ—16—0742.

167. Groha, P. Management of arterial hypertension / P. Groha, H. Schunkert // *Herz*. – 2015. – Vol. 40, № 6. – P. 929—940; quiz 941—2. doi: 10.1007/s00059—015—4349—5.
168. Hawthorn Extract Alleviates Atherosclerosis through Regulating Inflammation and Apoptosis Related Factors: An Experimental Study / S.Z. Wang, M. Wu, K.J. Chen [et al.] // *Chin. J. Integr. Med.* — 2018. doi: 10.1007/s11655—018—3020—4.
169. Hawthorn extract for treating chronic heart failure (Review) / R. Guo, M.H. Pittler, E. Ernst // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2008. — Issue 1. — CD005312. DOI: 10.1002/14651858.CD005312.pub2.
170. Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from the american heart association / E.J. Benjamin, S.S. Virani, C.W. Callaway [et al.] // *Circulation*. – 2018. – Vol. 137. – P. e67–e492. doi: 10.1161/CIR.0000000000000558
171. Herbal medicine for the treatment of cardiovascular disease: clinical considerations / N.H. Mashour, G.I. Lin, W.H. Frishman // *Arch. Int. Med.* – 1998. – Vol. 158, № 20. – P. 2225-2234.
172. Hyperglycemia—induced oxidative stress and heart disease—cardioprotective effects of rooibos flavonoids and phenylpyruvic acid—2—O—B—D—glucoside / P.V. Dlodla, E. Joubert, C.J.F. Muller [et al.] // *Nutr. Metab. (Lond)*. – 2017. – № 14. – P. 45. doi: 10.1186/s12986—017—0200—8.
173. Hypertension in the elderly / A. Handschin, K. Henny—Fullin, D. Buess [et al.] // *Ther. Umsch.* – 2015. – Vol. 72, № 6. – P. 397—403. doi: 10.1024/0040—5930/a000692.
174. Hypotensive effects of hawthorn for patients with diabetes taking prescription drugs: a randomised controlled trial / A.F. Walker, G. Marakis, E. Simpson [et al.] // *Br. J. Gen. Pract.* – 2006. — № 56 (527). – P. 437—443.

175. Identification, characterization and distribution of monoterpene indole alkaloids in Rauwolfiaspecies by Orbitrap Velos Pro mass spectrometer / S. Kumar, A. Singh, V. Bajpai, B. Kumar // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2016. – Vol. 118. – P. 183—194. doi: 10.1016/j.jpba.2015.10.037.
176. Immune Mechanisms in Arterial Hypertension / U. Wenzel, J.E. Turner, C. Krebs [et al.] // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2016. – Vol. 27, № 3. – P. 677—686. doi: 10.1681/ASN.2015050562.
177. Impaired mitochondrial network excitability in failing guinea—pig cardiomyocytes / K.Y. Goh, J. Qu, H. Hong [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2016. – Vol. 109, № 1. – P. 79—89.
178. Increased 90—day mortality in patients with acute heart failure with elevated copeptin: secondary results from the Biomarkers in Acute Heart Failure (BACH) study / A. Maisel, Y. Xue, K. Shah [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2011. – № 4. — P. 613—620.
179. Inflammation and oxidative stress in heart failure: effects of exercise intensity and duration / G.A. Ribeiro—Samora, L.A. Rabelo, A.C.C. Ferreira [et al.] // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2017. – Vol. 50, № 9. – P. e6393. doi: 10.1590/1414—431X20176393.
180. Inflammation Markers and Major Depressive Disorder in Patients With Chronic Heart Failure: Results From the Sertraline Against Depression and Heart Disease in Chronic Heart Failure Study / G.L. Xiong, K. Prybol, S.H. Boyle [et al.] // *Psychosom. Med.* – 2015. – Vol. 77, № 7. – P. 808—815. doi: 10.1097/PSY.0000000000000216.
181. Konukoglu, D. Endothelial Dysfunction and Hypertension / D. Konukoglu, H. Uzun // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – № 956. – P. 511—540. doi: 10.1007/5584_2016_90.
182. KSHF Guidelines for the Management of Acute Heart Failure: Part III. Specific Management of Acute Heart Failure According to the Etiology and Co—morbidity / M.S. Kim, J.H. Lee, H.J. Cho [et al.] // *Korean Circ. J.* – 2019. – Vol. 49, № 1. – P. 46—68. doi: 10.4070/kcj.2018.0351.

183. Lanza, I.R. Mitochondrial Metabolic Function Assessed In Vivo and In Vitro / I.R. Lanza, K.N. Sreekumaran // *Methods Enzymol.* – 2009. – Vol. 457. – P. 349—372. doi: 10.1097/MCO.0b013e32833cc93d.
184. Mak, S. The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts / S. Mak, G.E. Newton // *Chest.* – 2001. – Vol. 120. – P. 2035—2046.
185. Markers of fibrosis, inflammation, and remodeling pathways in heart failure / C. Passino, A. Barison, G. Vergaro [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2015. – Vol. 443. – P. 29—38. doi: 10.1016/j.cca.2014.09.006.
186. Medicinal plants in therapy / N.R. Farnworth, O. Akerele, A.S. Bingel [et al.] // *WHO Bull.* — 2001. – № 3. — P. 965–981.
187. Meier, B. Welcome to phytotherapy / B. Meier // *Forsch. Komplementmed.* – 2014. – Bd. 21, Suppl. 1. – S. 1. doi: 10.1159/000363713.
188. Metabolic adaptation to chronic hypoxia in cardiac mitochondria / L.C. Heather, M.A. Cole, J.J. Tan [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* – 2012. – Vol. 107, № 3. – P. 268. doi: 10.1007/s00395—012—0268—2.
189. Metabolic fate of cardiac glycosides and flavonoids upon fermentation of aqueous sea squill (*Drimia maritima* L.) extracts / D.N. Knittel, F.C. Stintzing, D.R. Kammerer // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2015. – Vol. 110. – P. 100—109. doi: 10.1016/j.jpba.2015.02.050.
190. Metabolite profiling of flavonols and in vitro antioxidant activity of young shoots of wild *Humulus lupulus* L. (hop)/ A.Maietti, V.Brighentib, G.Bonettia [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* - 2017. - Vol.142, № 5. - P.28-34.
191. Miller, W.L. Fluid Volume Overload and Congestion in Heart Failure: Time to Reconsider Pathophysiology and How Volume Is Assessed / W.L. Miller // *Circ. Heart Fail.* – 2016. – Vol. 9, № 8. – P. e002922. doi: 10.1161/CIRCHEART-FAILURE.115.002922.

192. Mitochondria as a therapeutic target in heart failure / M. Bayeva, M. Gheorghide, H. Ardehali // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2013. – Vol. 61, № 6. – P. 599—610.
193. Mitochondrial DNA damage and dysfunction associated with oxidative stress in failing hearts after myocardial infarction / T. Ide, H. Tsutsui, S. Hayashidani [et al.] // *Circ. Res.* – 2001. – Vol. 88. – P. 529–535.
194. Mitochondrial fusion is essential for organelle function and cardiac homeostasis / Y. Chen, Y. Liu, G.W. Dorn 2nd // *Circ. Res.* – 2011. – Vol. 109. – P. 1327–1331.
195. Mitochondrial Maturation in Human Pluripotent Stem Cell Derived Cardiomyocytes / D.F.Dai, M.E.Danoviz, B.Wiczler [et al.]// *Stem Cells International*.-2017.-Article ID 5153625, 10 pages. doi.org/10.1155/2017/5153625.
196. Modeling Pathologies of Diastolic and Systolic Heart Failure / M. Genet, L.C. Lee, B. Baillargeon [et al.] // *Ann. Biomed. Eng.* – 2016. – Vol. 44, № 1. – P. 112—127. doi: 10.1007/s10439—015—1351—2.
197. Moderate Dietary Supplementation with Omega—3 Fatty Acids Does Not Impact Plasma Von Willebrand Factor Profile in Mildly Hypertensive Subjects / C.S. Bürgin—Maunder, P.R. Brooks, D. Hitchen—Holmes, F.D. Russell // *Biomed. Res. Int.* – 2015. – 2015. – P. 394871. doi: 10.1155/2015/394871.
198. Morgenthaler, N.G. Copeptin: a biomarker of cardiovascular and renal function / N.G. Morgenthaler // *Congest Heart Fail.* – 2010. – Vol. 16. – P. 37—44.
199. *Moringa oleifera* leaf extract reduces high blood pressure by alleviating vascular dysfunction and reducing oxidative stress in rats with hypertension, L—NAME / D. Aekthammarat, P. Pannangpetch, P. Tangsucharit // *J. Phymed.* — 2018. – Vol. 54. – P. 9 —16. doi: 10.1016 / j.phymed.2018.10.023.

200. NADPH oxidase 4 (Nox4) is a major source of oxidative stress in the failing heart / J. Kuroda, T. Ago, S. Matsushima [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2010. – Vol. 107. – P. 15565–15570.
201. N α -(1-deoxy-D-fructos-1-yl)-L-arginine, an antioxidant compound identified in aged garlic extract/ K. Ryu, N. Ide, H. Matsuura, Y. Itakura// *J Nutr.* – 2001.- Vol.131(3s). – P. 972S-976S. doi: 10.1093/jn/131.3.972S.
202. Natakalin Ameliorates Isoproterenol—Induced Chronic Heart Failure by Protecting against Endothelial Dysfunction / M. Zhong, H. Zhou, C. Long [et al.] // *Pharmacology.* – 2016. – Vol. 98, № 3—4. – P. 99—110. doi: 10.1159/000445383.
203. New Knowledge About Old Drugs: The Anti—Inflammatory Properties of Cardiac Glycosides / R. Fürst, I. Zündorf, T. Dingermann // *Planta Med.* – 2017. – Vol. 83, № 12—13. – P. 977—984. doi: 10.1055/s—0043—105390.
204. NHE—1 participates in isoproterenol—induced downregulation of SERCA2a and development of cardiac remodeling in rat hearts / M. Shibata, D. Takeshita, K. Obata [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2011. – Vol. 301, № 5. – P. 2154—2160.
205. Nishikimi, T. Adrenomedullin as a Biomarker of Heart Failure / T. Nishikimi, Y. Nakagawa // *Heart Fail Clin.* – 2018. – Vol. 14, № 1. – P. 49—55. doi: 10.1016/j.hfc.2017.08.006.
206. Nitric oxide: A new possible biomarker in heart failure? Relationship with pulmonary hypertension secondary to left heart failure / R.J. Bonafede, J.P. Calvo, J.M.V. Fausti [et al.] // *Clin. Investig. Arterioscler.* – 2017. – Vol. 29, № 3. – P. 120—126. doi: 10.1016/j.arteri.2016.12.002.
207. Novel biomarkers for cardiovascular risk prediction / J. Wang, G.J. Tan, L.N. Han [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2018. – Vol. 5, № 2. – P. 288—296. doi: 10.1002/ehf2.12231.

208. Novel Biomarkers of Heart Failure / A. Savic—Radojevic, M. Pljesa—Ercegovac, M. Matic [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2018. – Vol. 20, № 2. – P. 268—277. doi: 10.1002/ejhf.988.
209. Palliative care need in patients with advanced heart failure hospitalized in a tertiary hospital / R. Orzechowski, A.L. Galvão, T.D.S. Nunes, L.S. Campos // *Rev. Esc. Enferm. USP.* – 2019. – Vol. 53. – P. e03413. doi: 10.1590/S1980—220X2018015403413.
210. Pathogenesis of essential hypertension—a half of the century perspective / W. Januszewicz, M. Kabat, A. Prejbisz, A. Januszewicz // *Pol. Merkur. Lekarski.* – 2014. – Vol. 36, №211. – P. 7—10.
211. Pathophysiological Mechanisms and Correlates of Therapeutic Pharmacological Interventions in Essential Arterial Hypertension / F. Maranta, R. Spoladore, G. Fragasso // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2017. – № 956. – P. 37—59. doi: 10.1007/5584_2016_169.
212. Pathophysiology of hypertension: interactions between macro and microvascular alterations through endothelial dysfunction / A. Yannoutsos, B.I. Levy, M.E. Safar [et al.] // *J. Hypertens.* – 2014. – Vol. 32, № 2. – P. 216—224. doi: 10.1097/HJH.000000000000021.
213. Pearson, M.J. Effect of exercise training on endothelial function in heart failure patients: A systematic review metaanalysis / M.J. Pearson, N.A. Smart // *Int. J. Cardiol.* – 2017. – Vol. 231. – P. 234—243. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.12.145.
214. Pharmacological effects of meldonium: Biochemical mechanisms and biomarkers of cardiometabolic activity / M. Dambrova, M.Makrecka-Kuka, R.Vilskersts, [et al.] // *Pharmacol Res.* - 2016.- 113(Pt B).-P.771-780.
215. Physico—chemical, antioxidant, and anti inflammatory properties and stability of hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) procyanidins microcapsules with inulin and maltodextrin / D. Wyspiańska, A.Z. Kucharska, A.Sokół—Łętowska, J. Kolniak—Ostek // *J. Sci. Food Agric.* – 2017. –Vol. 97, № 2. – P. 669—678. doi: 10.1002/jsfa.7787.

216. Physiological and structural differences in spatially distinct subpopulations of cardiac mitochondria: influence of cardiac pathologies / J.M. Hollander, D. Thapa, D.L. Shepherd // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2014. – Vol. 307, № 1. – P. H1—14.
217. Phytotherapy in primary health care / G.D. Antonio, C.D. Tesser, R.O. Moretti—Pires // *Rev. Saude Publica.* – 2014. – Vol. 48, № 3. – P. 541—53.
218. Pietta, P.G. Flavonoids as antioxidants/ P.G. Pietta//*J. Nat. Prod.*-2000 . -Vol.63, №7.-P.1035-1042.
219. Plasma copeptin levels and prediction of outcome in heart failure outpatients: relation to hyponatremia and loop diuretic doses / L. Balling, C. Kistorp, M. Schou [et al.] // *J. Card. Fail.* – 2012. – Vol. 18. – P. 351—358.
220. Plasma Inflammatory Markers and the Risk of Developing Hypertension in Men / H.D. Sesso, M.C. Jiménez, L. Wang [et al.] // *J. Am. Heart Assoc.* – 2015. – Vol. 4, № 9. – P. e001802. doi: 10.1161/JAHA.115.001802.
221. Platelet activation, oxidative stress and overexpression of inducible nitric oxide synthase in moderate heart failure / L.R. Meirelles, A. de C. Resende, C. Matsuura [et al.] // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2011. – Vol. 38, № 10. – P. 705—710. doi: 10.1111/j.1440—1681.2011.05580.x.
223. Platelet—Derived Growth Factor in Heart Failure / J. Medamana, R.A. Clark, J. Butler // *Handb Exp. Pharmacol.* – 2017. – № 243. – P. 355—369. doi: 10.1007/164_2016_80.
224. Predictive value of midregional pro—adrenomedullin compared to natriuretic peptides for incident cardiovascular disease and heart failure in the population—based FINRISK 1997 cohort / A. Funke—Kaiser, A.S. Havulinna, T. Zeller [et al.] // *Ann. Med.* – 2014. – Vol. 46, № 3. – P. 155—162. doi: 10.3109/07853890.2013.874662.
225. Prevalence and correlates of coronary microvascular dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction: PROMIS—HfpEF / S.J. Shah,

- C.S.P. Lam, S. Svedlund [et al.] // *Eur. Heart J.* – 2018. – Vol. 39, № 37. – P. 3439—3450. doi: 10.1093/eurheartj/ehy531.
226. Prevalence of Depression in Patients With Hypertension: A Systematic Review and Meta—Analysis / Z. Li, Y. Li, L. Chen [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. – 2015. – Vol. 94, № 31. – P. e1317. doi: 10.1097/MD.0000000000001317.
227. Prognostic importance of emerging cardiac, inflammatory, and renal biomarkers in chronic heart failure patients with reduced ejection fraction and anaemia: RED—HF study / P. Welsh, L. Kou, C. Yu [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2016. – Vol. 18, № 12. – P. 1491—1498. doi: 10.1002/ejhf.543.
228. Prognostic performance of serial in—hospital measurements of copeptin and multiple novel biomarkers among patients with worsening heart failure: results from the MOLITOR study / H.D. Düngen, V. Tscholl, D. Obradovic [et al.] // *ESC Heart Fail.* – 2018. – Vol. 5, № 2. – P. 288—296. doi: 10.1002/ehf2.12231.
229. Promising hypotensive effect of hawthorn extract: A randomized double- blind pilot study of mild, essential hypertension / A.F. Walker, G. Marakis, A.P. Morris, P.A. Robinson // *Phytotherapy*. – 2002. – Vol. 16, Issue1. – P. 48—54.
230. Puerarin Improves Vascular Insulin Resistance and Cardiovascular Remodeling in Salt—Sensitive Hypertension / C. Tan, A. Wang, C. Liu [et al.] // *Am. J. Chin. Med.* – 2017. – Vol. 45, № 6. – P. 1169—1184. doi: 10.1142/S0192415X17500641.
231. *Rauwolfia serpentina*; prolonged use in elderly hypertensive patients / M.B. Lipsett, A.H. Levine, R. Goldman // *Calif. Med.* – 1954. – Vol. 81, № 6. – P. 412—413.
232. Regression of isoproterenol—induced cardiac hypertrophy by Na⁺/H⁺ exchanger inhibition / I.L. Ennis, E.M. Escudero, G.M. Console [et al.] // *Hypertension*. – 2003. – Vol. 41, № 6. – P. 1324—1329.

233. Relation of C—reactive protein, fibrinogen, and cardiorespiratory fitness to risk of systemic hypertension in men / S.Y. Jae, S. Kurl, J.A. Laukkanen [et al.] // *Am. J. Cardiol.* – 2015. – Vol. 115, № 12. – P. 1714—1719. doi: 10.1016/j.amjcard.2015.03.016.
234. Role of Inflammation in Heart Failure / L.F. Shirazi, J. Bissett, F. Romeo, J.L. Mehta // *Curr. Atheroscler. Rep.* – 2017. – Vol. 19, № 6. – P. 27. doi: 10.1007/s11883—017—0660—3.
235. Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension / Q.N. Dinh, G.R. Drummond, C.G. Sobey, S. Chrissobolis // *Biomed. Res. Int.* – 2014. – 2014. – P. 406960. doi: 10.1155/2014/406960.
236. Saller, R. Multimorbidity and multi—target—therapy with herbal drugs / R. Saller, M. Rostock // *Praxis.* – 2012. – Vol. 101, № 25. – P. 1637—1642. doi: 10.1024/1661—8157/a001149.
237. *Salvia miltiorrhiza*: A Potential Red Light to the Development of Cardiovascular Diseases / L. Wang, R. Ma, C. Liu [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2017. – Vol. 23, № 7. – P. 1077—1097. doi: 10.2174/ 1381612822666161010105242.
238. Selective Vascular Endothelial Protection Reduces Cardiac Dysfunction in Chronic Heart Failure / J. Maupoint, M. Besnier, E. Gomez [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2016. – Vol. 9, № 4. – P. e002895. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.115.002895.
239. Simvastatin attenuates the oxidative stress, endothelial thrombogenicity and the inducibility of atrial fibrillation in a rat model of ischemic heart failure / K.I. Cho, S.H. Koo, T.J. Cha [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2014. – Vol. 15, № 8. – P. 14803—14818. doi: 10.3390/ijms150814803
240. Siwik, D.A. Regulation of matrix metalloproteinases by cytokines and reactive oxygen/nitrogen species in the myocardium / D.A. Siwik, W.S. Colucci // *Heart Fail Rev.* – 2004. – Vol. 9, № 1. – P. 43—51.

241. Shamon S.D. Blood pressure-lowering efficacy of reserpine for primary hypertension/ S.D. Shamon, M.I. Perez // *Cochrane Database Syst Rev.* - 2016. - № 12.-CD007655. doi: 10.1002/14651858.CD007655.pub3.
242. State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice / A. Maisel, C. Mueller, K. Adams Jr. [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2008. – Vol. 10, № 9. – P. 824–83.9
243. Statins and oxidative stress in chronic heart failure / S. Costa, M. Reina—Couto, A. Albino—Teixeira, T. Sousa // *Rev. Port. Cardiol.* – 2016. – Vol. 35, № 1. – P. 41—57. doi: 10.1016/j.repc.2015.09.006.
244. Statsenko, M.E. Use of meldonium in the combination treatment of patients with heart failure in the early postinfarction period/ Statsenko M.E., Shilina N.N, Turkina S.V. // *Ter Arkh.*- 2014.- Vol.86, №4.-p. 30-34.
245. Tanai, E. Pathophysiology of Heart Failure / E. Tanai, S. Frantz // *Compr. Physiol.* – 2015. – Vol. 6, № 1. – P. 187—214. doi: 10.1002/cphy.c140055.
246. Targeting Endothelial Function to Treat Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: The Promise of Exercise Training / A.B. Gevaert, K. Lemmens, C.J. Vrints, E.M. Van Craenenbroeck // *Oxid. Med. Cell Longev.* – 2017. – 2017. – P. 4865756. doi: 10.1155/2017/4865756.
247. The future of pleiotropic therapy in heart failure. Lessons from the benefits of exercise training on endothelial function / G.W. De Keulenaer, V.F.M. Segers, F. Zannad, D.L. Brutsaert // *Adv. Clin. Chem.* – 2017. – Vol. 79. – P. 93—152. doi: 10.1016/bs.acc.2016.09.002.
248. The incremental prognostic and clinical value of multiple novel biomarkers in heart failure / C.E. Jackson, C. Haig, P. Welsh [et al.] // *J. Geriatr. Cardiol.* – 2017. – Vol. 14, № 2. – P. 135—150. doi: 10.11909/j.issn.1671—5411.2017.02.008.
249. The Endothelium as a Target for the Treatment of Heart Failure / O. Yang, J. Li, J. Kong // *Cell Biochem. Biophys.* – 2015. – Vol. 72, № 3. – P. 751—756. doi: 10.1007/s12013—015—0526—7.

250. The heart failure management in Sicily: cognitive analysis of clinical features / G. Di Gesaro, E. La Franca, C. Falletta [et al.] // *Recenti Prog. Med.* – 2019. – Vol. 110, № 1. – P. 33—41. doi: 10.1701/3089.30820.
251. The nitric oxide donor pentaerythritol tetranitrate reduces platelet activation in congestive heart failure / U. Flierl, D. Fraccarollo, J.D. Widder [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 4. – P. e0123621. doi: 10.1371/journal.pone.0123621.
252. The Role of Calcium Handling in Heart Failure and Heart Failure Associated Arrhythmias / D.M. Johnson, A. Mugelli, E. Cerbai // *Front. Physiol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1. doi: 10.3389/fphys.2019.00001.
253. Tilburt J.C. Herbal medicine research and global health: an ethical analysis/ J.C. Tilburt, T.J. Kaptchuk// Published in *Bulletin of the World Health Organization*/ 2008. DOI:10.2471/BLT.07.042820.
254. Treatment of arterial hypertension with rescinnamine, a new alkaloid isolated from *Rauwolfia serpentina*/ G. Lemieux, A. Davignon, J. Genest // *Can Med Assoc J.*- 1956.- Vol. 74, №2.-p.144-148.
255. Treatment with Herbal Medicines / N.B. Farnworth [et al.] // *WHO Bull.* – 1985. – Vol. 63. – P. 1–16.
256. Tsverava, M.D. Influence of mildronat on left ventricular systolic, diastolic functional parameters, pulmonary arterial flow and systolic dyssynchrony in patients with congestive heart failure/ M.D.Tsverava// *Georgian Med News.* - 2013. -№218.-P.34-40.
257. Use of Herbal Medicines and Implications for Conventional Drug Therapy Medical Sciences/ J.O.Rivera, A.M. Loya, R.Ceballos// *Alternative and Integrative Medicine.*- 2013. –Vol. 2, №6. – P.130.
258. Variation in flavonoid pattern in leaves and flowers of *Primula veris* of different origin and impact of UV—B / E.M. El Morchid, P.T. Londono, M. Papagiannopoulos [et al.] // *Biochem. Syst. Ecol.* – 2014. – Vol. 53. – P. 81–88.

259. Von Willebrand factor improves risk prediction in addition to N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in patients referred to coronary angiography and signs and symptoms of heart failure and preserved ejection fraction / M.E. Kleber, L. Koller, G. Goliash [et al.] // *Circ. Heart Fail.* – 2015. – Vol. 8, № 1. – P. 25—32. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.114.001478.
260. Wermelt, J.A. Management of arterial hypertension / J.A. Wermelt, H. Schunkert // *Herz.* – 2017. – Vol. 42, № 5. – P. 515—526. doi: 10.1007/s00059—017—4574—1.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра фармакопей и международного сотрудничества ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», доктор фармацевтических наук, профессор

Е.И. САКАНЯН

«__» _____ 20__ г.

**СТАНДАРТ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА
ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ ПРЕДПРИЯТИЯ**

Производитель: ООО «Травы Башкирии»

Заявитель и Разработчик: ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Густой экстракт из травы первоцвета весеннего

ФС-

Срок введения установлен

с «__» _____ г.

до «__» _____ г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на густой экстракт из травы первоцвета весеннего.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ: ООО «Травы Башкирии»

ФАСОВЩИК (ПЕРВИЧНАЯ УПАКОВКА): ООО «Травы Башкирии»

УПАКОВЩИК (ВТОРИЧНАЯ (ПОТРЕБИТЕЛЬСКАЯ) УПАКОВКА): ООО «Травы Башкирии»

ВЫПУСКАЮЩИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА: ООО «Травы Башкирии»

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

СПЕЦИФИКАЦИЯ

Густой экстракт из травы первоцвета весеннего
ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	Визуальная оценка в соответствии с требованиями ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.4.1.0021.15 «Экстракты», том 2	Густая вязкая масса темно-зеленого цвета со специфическим запахом.
Растворимость	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.1.0005.15 «Растворимость», том 1	Растворим в воде, спирте этиловом. Практически не растворим в эфире, хлороформе, бутаноле, этилацетате.
Подлинность	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.1.2.0001.15 «Хроматография», том 1	Должны обнаруживаться две зоны адсорбции на уровне рутина и эсцина.
Цветность раствора	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.1.0006.15 «Степень окраски жидкостей», том 1, метод 1	0,1% раствор субстанции в 70% спирте этиловом не должен быть интенсивнее эталона У ₃ или ВУ ₃
Тяжелые металлы	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы», том 1	Не более 0,001 %
Потеря в массе при высушивании	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании», том 1, способ 1	Не более 25 %
Остаточные	ГФ РФ XIII изд., ОФС	Спирт этиловый не более 50

органические растворители	1.1.0008.15 «Определение спирта этилового в лекарственных средствах», том 1	мг/сут
Микробиологическая чистота	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота», том 1	Категория 3.2
Количественное определение	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях», том 1	Содержание в пересчете на сухое вещество должно быть: эцин – не менее 6% рутин - не менее 3%
Упаковка	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.1.0006.15 «Фармацевтические субстанции», том 1	Картонные навивные барабаны, во внутрь которых предварительно вкладывают двойной полиэтиленовый мешок.
Маркировка	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.1.0006.15 «Фармацевтические субстанции», том 1	В соответствии с ФСП
Хранение	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.1.0010.15 «Хранение лекарственных средств», том 1	В сухом (не более 60% влажности воздуха), защищенном от света месте при температуре от 8 до 15 С°
Предполагаемый срок годности	ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств», том 1	3 года

Настоящая фармакопейная статья предприятия распространяется на густой экстракт из травы первоцвета весеннего субстанцию - густой экстракт для приготовления сиропа, представляющий собой густой экстракт травы первоцвета весеннего

Описание. Густая вязкая масса темно-зеленого цвета со специфическим запахом

Растворимость. Растворим в воде, спирте этиловом. Практически не растворим в эфире, хлороформе, бутаноле, этилацетате.

Подлинность.

Качественный анализ густого экстракта проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Исследование проводили восходящим способом с использованием пластинок «Сорбфил» ПТСХ-П-А-УФ. На линию старта пластинки, активированной в течение 30 минут, наносили подготовленный густой экстракт из травы первоцвета весеннего, а также раствор стандартного образца. Высушенную на воздухе пластинку помещали в хроматографическую камеру, предварительно насыщенную смесью растворителей. После достижения фронта растворителя до линии финиша, пластинку вынимали, высушивали и просматривали в УФ – свете.

Качественный анализ состава флавоноидов проводили в системе растворителей спирт бутиловый - кислота уксусная ледяная - дистиллированная вода (БУВ) (4:1:2). При использовании данной системы в исследуемых образцах экстракта обнаружены зоны адсорбции на уровне рутина.

Качественное обнаружение сапонинов проводили в системе растворителей этилацетат – спирт метиловый – диэтиламин (70:20:15). При использовании данной системы в исследуемых образцах экстракта обнаружены зоны адсорбции на уровне эсцина.

Тяжелые металлы. Содержание не должно превышать 0,001% в препарате. (ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.2.2.0012.15).

Потеря в массе при высушивании. Не более 25%. Около 0,5 г (точная навеска) препарата сушат до постоянной массы. (ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.1.0010.15, Способ 1).

Остаточные органические растворители.

ГФ РФ XIII изд., том 1, ОФС 1.1.0008.15. Испытание проводят методом газо-жидкостной хроматографии.

Спирт этиловый не более 50 мг/сут

Условия хроматографирования.

Метод анализа: газо-жидкостная хроматография.

Газо-жидкостной хроматограф	Shimadzu GC-2014 или аналогичный
Детектор	пламенно-ионизационный
Газ-носитель	гелий
Температурный режим термостата	-начальная температура 40 °С (держать 2 мин); -повышение до 150 °С (градиент 6 °С /мин и держать 5 мин)
Температура инжектора	150 °С
Температура детектора	170 °С
Скорость газа-носителя	30 мл/мин
Объем вводимой пробы	1 мкл

Пригодность хроматографической системы.

Разрешение пиков спирта этилового не менее 2,0; фактор асимметрии пика спирта этилового не превышает 1,5; относительное стандартное отклонение не превышает 2,0 % относительно площади пика этанола к площади пика внутреннего стандарта.

Площадь пика этанола стандартного образца не должна превышать площадь пика этанола из исследуемого вещества.

Микробиологическая чистота. Испытания проводят в соответствии с требованиями ГФ РФ XIII изд., ОФС 1.2.4.0002.15, Категория 3.2.

Количественное определение.

Количественное определение флавоноидов.

Количественное определение флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на рутин.

0,5 г (точная навеска) густого экстракта из травы первоцвета весеннего растворяли в 80 мл 70% растворе спирта этилового в мерной колбе

вместимостью 100мл, после полного растворения экстракта раствор в мерной колбе доводят 70% раствором спирта этилового до метки (раствор А). 2 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 2 мл 2 % раствора алюминия хлорида в 70% спирте этиловом и 0,1 мл кислоты уксусной разведенной. Объем раствора доводят тем же спиртом до метки и оставляют на 30 минут (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 408 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения использовали раствор, состоящий из 2 мл извлечения, 0,1 мл кислоты уксусной разведенной и доведенный 70% спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца рутина (СО), приготовленного аналогично испытуемому раствору. Для приготовления указанного раствора брали 1 мл раствора стандартного образца рутина.

Приготовление раствора стандартного образца рутина. Около 0,05 г (точная навеска) стандартного образца СО рутина (ФС 42-2508-87), в пересчете на сухое вещество (определение влаги проводили по методу Фишера) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 85 мл 70% раствора спирта этилового и нагревали на водяной бане до полного растворения. Затем охлаждали, объем раствора доводят до метки тем же спиртом и раствор перемешивали. Срок хранения раствора 3 месяца.

Количественное определение сапонинов.

Количественное определение сапонинов проводили спектрофотометрическим методом в пересчете на эсцин.

0,5 г (точная навеска) густого экстракта из травы первоцвета весеннего растворяли в 80 мл 70% растворе спирта этилового в мерной колбе вместимостью 100мл, после полного растворения экстракта раствор в мерной колбе доводят 70% раствором спирта этилового до метки (раствор А). В пробирку с притертой пробкой отмеривают 2 мл раствора А, осторожно по

стенке пробирки прибавляют 8 мл кислоты серной концентрированной и тщательно перемешивают.

Через 30 мин измеряют оптическую плотность с помощью спектрофотометра при длине волны 325 ± 5 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют кислоту серную концентрированную.

Упаковка. Густой экстракт заливают в фанерно-штампованные бочки, деревянные заливные и сухотарные бочки по ГОСТ 8777. Картонные навивные барабаны по ГОСТ 17065, во внутрь которых предварительно вкладывают двойной полиэтиленовый мешок по ГОСТ 17811 или в стальные бочки по ГОСТ 13950 и ГОСТ 6247, металлические фляги по ГОСТ 5037. Наклеивают этикетки из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 или бумаги писчей по ГОСТ 18510-87. Групповая и транспортная упаковка в соответствии с ГОСТ 17768-90 и РД 9301-0015-05749470-97.

Маркировка. На этикетке указывают торговое и международное непатентованное наименование, информацию о назначении субстанции («Для производства сиропа»), наименование производителя, количество, условия хранения (В сухом, защищенном от света месте при температуре от 8 до 15 С°), меры предосторожности, дату изготовления, номер серии, срок годности.

Надписи на упаковочном листе в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Маркировка транспортной тары в соответствии с Федеральным законом № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств».

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 17768-90.

Хранение. В сухом, защищенном от света месте, при температуре от 8 до 15С°

Предполагаемый срок годности 3 года.

Примечание: Реактивы и титрованные растворы, приведенные в настоящей фармакопейной статье предприятия, описаны в соответствующих разделах Государственной Фармакопеи XIII изд.

Руководитель
разработки
Генеральный директор
ООО "Травы Башкирии"

« _ »



А.А. Иванов

Проректор по научной и
инновационной работе
ФГБОУ ВО БГМУ
МИНЗДРАВА РОССИИ,
профессор

« _ »

2017 г.

И.Р. Рахматуллина

Заведующий кафедрой
фармации ИДПО
ФГБОУ ВО БГМУ
МИНЗДРАВА РОССИИ,
профессор

« _ »

2017 г.



В.А. Катаев

Профессор кафедры
фармации ИДПО
ФГБОУ ВО БГМУ
МИНЗДРАВА РОССИИ,
профессор

« _ »

2017 г.

Г.М. Латыпова

Соискатель кафедры
фармации ИДПО
ФГБОУ ВО БГМУ
МИНЗДРАВА РОССИИ,

« _ »

2017 г.

Д.Ф. Иванова

Выделение и идентификация индивидуальных соединений из ГЭТПВ

Для выделения индивидуальных соединений использовали высушенное измельченное растительное сырье травы первоцвета весеннего, заготовленное в Европейской части РФ (степень измельченности 1–3 мм) от 200 г до 3,0 кг. Экспериментально установлено, что максимальный выход фенольных соединений (качественно и количественно) осуществляется экстракцией сырья раствором спирта этилового 70% [Латыпова et al., 2011]. Исследование качественного состава фенольных соединений проводили методом ВЭЖХ. Проведенные ранее авторами исследования показали, что перспективными для исследования явились полифенольные соединения, в том числе флавоноиды.

Для разделения БАС упаренные под вакуумом водные извлечения наносили на колонки, наполненные силикагелем L 40/100 и L 100/110 мкм. Экстрактивные вещества элюировали хлороформом, спирто-хлороформными смесями и спиртом этиловым. Полученные элюаты делились на фракции одинакового состава и упаривались под вакуумом. Индивидуальные вещества выделяли с использованием рехроматографии на микроколонках с полиамидным сорбентом («Wolem DC»), элюировали водой и водно-спиртовыми растворами различных концентраций (20%, 40%, 70%, 96%). Фракции, содержащие одинаковые вещества, объединяли, при необходимости упаривали, при этом наблюдали появление осадков. Выпавшие осадки отделяли, перекристаллизовывали из спирта этилового, водно-спиртовых растворов.

Процесс фракционирования БАС контролировали методами ТСХ, УФ-спектроскопии. Для выполнения ТСХ использовали пластинки «Sorbfil» (марки ПТСХ-П-А и ПТСХ-АФ-А-УФ), различные системы растворителей. УФ-спектры растворов выделенных веществ и водно-спиртовых извлечений регистрировали с помощью спектрофотометра «Specord 40». Экспериментально определено, что для выполнения ТСХ наиболее

оптимальной оказалась система растворителей н. бутанол – кислота уксусная – вода (БУВ) (4:1:2).

Структуру выделенных веществ определяли веществ на базе Уфимского института химии Российской академии наук методами УФ, ЯМР ^1H -, ЯМР ^{13}C –спектроскопии, корреляционной спектроскопии ЯМР ^1H - $^1\text{H}\text{COSY}$, ^1H - ^{13}C HSQCED, HMBC; хромато-масс-спектрометрии на основании физико-химических свойств, методов хроматографии, сравнением со стандартными образцами веществ.

В ходе проведенных исследований авторами идентифицированы перспективные для изучения полиметоксилированные флавоноиды, являющиеся хемотаксономическими маркерами для растений рода первоцвет (8-метокси-флаван, флаван, 3',4'-метиленди-окси-5'-метокси-флаван) (Таблица 15).

Так, авторами выделено вещество в спектрах ЯМР ^{13}C которого представлены сигналы восьми четвертичных углеродных атомов, одной CH_2 -групп, семи CH - и одной OCH_3 -групп. Сигналы карбонильного С-4 (δ_{C} 178.34) углеродного атома, а также углеродных атомов двойной связи С-2 (δ_{C} 162.96) и С-3 (δ_{C} 106.93) обладают характеристичными значениями химических сдвигов 1,3-замещенной (т. е. положение 3 по отношению $\text{C}=\text{O}$) еноновой системы .

Положение 7-метокси-1,3-бензодиоксольного заместителя в 4Н-хромен-4-оне установили на основании сильнополюсных сигналов протона Н-3 (δ_{H} 6.72) и его углерода С-3 (δ_{C} 106.93). Это характерно для протона еноновой двойной связи находящегося в области экранирования магнитно-анизотропной группы $\text{C}=\text{O}$, что приводит к смещению сигнала в спектре в более сильное поле (если бы протон находился в положении С-2, а бензодиоксольный заместитель в С-3, то сигналы Н-2 регистрировались бы в более слабом поле в области 8.1–8.5 м.д.).

Выделенное вещество представляет собой густую маслянистую жидкость темно-зеленого цвета состава $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_5$, 3',4'-метилендиокси-5'-

метоксифлавонон (2-(7-метокси-1,3-бензодиоксол-5-ил)-4Н-хромен-4-он), УФ – спектр в спирте этиловом: λ_{\max} 219 , 337, 410 нм.

Данное соединение 3',4'-метилendioкси-5'-метоксифлавонон выделено авторами из травы первоцвета весеннего впервые (патент № 2532999 от 20.01.15) (рисунок 25) [Латыпова et al., 2013].

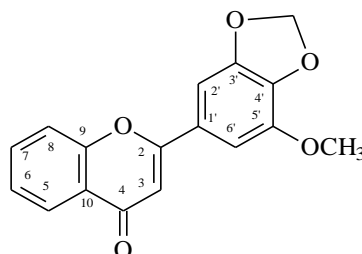


Рисунок 25 – Структурная формула 3',4'-метилendioкси-5'-метоксифлавонона

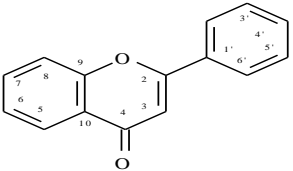
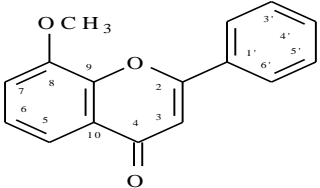
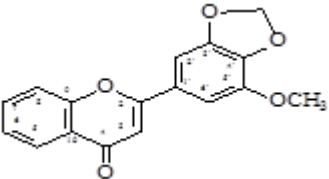
Кроме полиметоксилированных флавоноидов авторами также были выделены агликоны флавоноидов (апигенин, кверцетин, кемпферол); флавоноидные гликозиды (цинарозид, рутин, гиперозид) (таблица 2) [Латыпова et al., 2009; 2011].

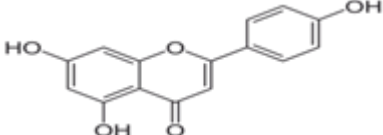
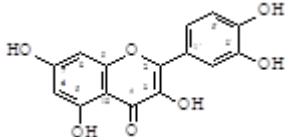
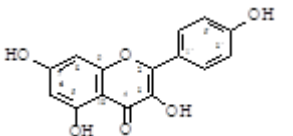
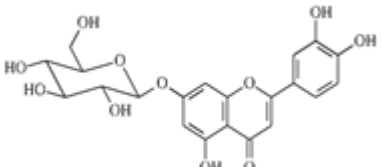
Таблица 14 – Биологически активные соединения, выделенные из первоцвета весеннего

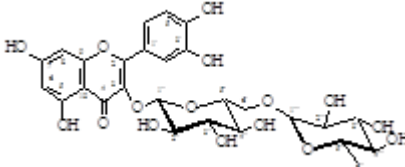
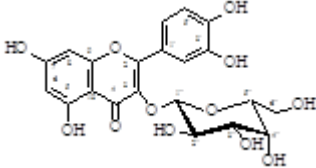
Гидрофильные БАС	Липофильные БАС
<p>Флавоноиды: Флавоноидные гликозиды (рутин, кверцимеритрин, цинарозид и др.); Флавоноиды-агликоны (апигенин, кемпферол, кверцетин, таксифолин) Кумарины: умбеллиферон, кумарин Феноло- и оксикоричные кислоты: хлорогеновая, неохлорогеновая, цикориевая, галловая, феруловая, кофейная, коричная, салициловая Дубильные вещества: катехин, Танин</p>	<p>Полиметоксилированные флавоноиды: производные флавонона: 8-метокси-флавонон, 3'-метокси-флавонон, 5,6,7,3',4'-пентаметоксифлавонон (синенсетинт), 5,6,2',6'-тетраметоксифлавонон (запотин), 3',4'-метилendioкси-5'-метоксифлавонон</p>
<p>Тритерпеновые сапонины: кислота урсоловая</p>	<p>Дитерпены (фитол, изофитол)</p>
<p>Органические кислоты: янтарная,</p>	<p>Производные жирных кислот:</p>

щавелевая, лимонная, аскорбиновая и др.	метилловый эфир-9,12,15 октадекатриеновой кислоты,
Аминокислоты: серин, аспарагин, глицин, пролин, цистеин и др.	метилловый эфир-9,12-октадекадиеновой кислоты,
	генэйкозан, метилловый эфир пальмитиновой кислоты

Таблица 15. Соединения фенольной природы, идентифицированные в траве и экстракте первоцвета весеннего

№ п/ п	Наименование вещества	Спектральные характеристики
1	Флаван (2-фенил-4Н-хромен-4-он) 	ЯМР ^1H (CDCl_3): 6.82 (1H, с, H^3), 7.40 (1H, дд, $J=8.2, 1.0$, H^6), 7.51 (2H, м, $\text{H}^{3'}$, H^5), 7.55 (2H, м, H^4 , H^8), 7.68 (1H, дд, $J=8.2, 1.0$, H^7), 7.91 (2H, м, H^2 , H^6), 8.23 (1H, дд, $J=8.2, 1.7$, H^5). ЯМР ^{13}C (CDCl_3): 107.3 (C^3), 117.9 (C^8), 123.7 (C^{10}), 124.9 (C^6), 125.4 (C^5), 126.0 ($\text{C}^{6'}$, $\text{C}^{2'}$), 128.8 ($\text{C}^{3'}$, $\text{C}^{5'}$), 131.3 ($\text{C}^{4'}$), 131.5 ($\text{C}^{1'}$), 133.5 (C^7), 156.0 (C^9), 163.0 (C^2), 178.0 ($\text{C}=\text{O}$).
2	8-метокси-флаван (8-метокси-2-фенил-4Н-хромен-4-он) 	ЯМР ^{13}C (CDCl_3): 56.2 (OCH_3), 107.1 (C^3), 114.2 (C^5), 116.1 (C^7), 124.1 (C^{10}), 124.6 (C^6), 126.1 ($\text{C}^{6'}$, $\text{C}^{2'}$), 128.7 ($\text{C}^{3'}$, $\text{C}^{5'}$), 131.2 ($\text{C}^{4'}$), 131.6 ($\text{C}^{1'}$), 146.1 (C^9), 148.8 (C^8), 162.6 (C^2), 178.0 ($\text{C}=\text{O}$).
3	3',4'-метиленди-окси-5'-метокси-флаван 	ЯМР ^1H (CDCl_3): 4.0 (3H, с, OCH_3), 6.10 (2H, с, $\text{H}^{2'}$), 6.71 (1H, с, H^3), 7.11 (1H, д, $J=1.5$ Гц, $\text{H}^{6'}$), 7.14 (1H, д, $J=1.5$ Гц, $\text{H}^{4'}$), 7.43 (1H, дд, $J=7.9, 7.3$ Гц, H^6), 7.55 (1H, д, $J=8.2$ Гц, H^5), 7.69 (1H, ддд, $J=8.2, 7.3, 1.5$ Гц, H^7), 8.22 (1H, дд, $J=7.9, 1.5$ Гц, H^2). ЯМР ^{13}C (CDCl_3): 56.36 (OCH_3), 100.74 ($\text{C}^{6'}$), 102.34 ($\text{C}^{2'}$), 106.93 (C^3 , $\text{C}^{4'}$), 117.98 (C^8), 123.89 (C^{10}), 125.23 (C^6), 125.69 (C^5), 126.14 ($\text{C}^{5'}$), 133.71 (C^7), 138.45 ($\text{C}^{1'}$), 143.87 (C^7), 149.55 ($\text{C}^{3'}$), 159.13 (C^9), 162.96 (C^2), 178.34 ($\text{C}=\text{O}$).

4	<p>Апигенин (5,7,4' – тригидроксифлавоон, 5,7-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил)-4Н-хроман-4-он)</p> 	<p>ЯМР ^1H (DMSO-d₆): 7.93 (2H, д, $J=8.0$, H^{2'}, H^{6'}), 6.92 (2H, д, $J=8.0$, H^{3'}, H^{5'}), 6.77 (1H, д, $J=2.5$, H⁸), 6.47 (1H, с, H³), 6.21 (1H, д, $J=2.5$, H⁶).</p> <p>ЯМР ^{13}C (DMSO-d₆): 182.21 (C⁴), 164.19 (C²), 163.31 (C⁷), 161.95 (C⁵), 161.79 (C^{4'}), 157.86 (C⁹), 128.98 (C^{2'}, C^{6'}), 121.63 (C^{1'}), 116.51 (C^{3'}, C^{6'}), 105.83 (C¹⁰), 103.30 (C³), 99.89 (C⁶), 94.55 (C⁸).</p>
5	<p>Кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагидрооксифлавоон)</p> 	<p>ЯМР ^1H (CD₃OD): 6.1 (1H, д, $J=2.1$, H⁶), 6.37 (1H, д, $J=2.1$, H⁸), 6.87 (1H, д, $J=8.5$, H⁵), 7.6 (1H, дд, $J=8.5$, 2.1, H⁶), 7.74 (1H, д, $J=2.1$, H²).</p> <p>ЯМР ^{13}C (CD₃OD): 94.12 (C⁸), 99.87 (C⁶), 105.16 (C³), 115.36 (C¹⁰), 115.69 (C^{5'}), 121.48 (C^{6'}), 124.62 (C^{2'}), 137.72 (C^{1'}), 146.27 (C⁹), 148.57 (C^{3'}), 149.36 (C^{4'}), 158.51 (C⁵), 163.46 (C⁷), 166.46 (C²), 177.57 (C⁴).</p>
6	<p>Кемпферол (3,5,7,4'- тетрагидрооксифлавоон)</p> 	<p>ЯМР ^1H (DMSO): 8.10 (2H, д, $J=8.0$, H^{2'}, H^{6'}), 7.0 (2H, д, $J=8.0$, H^{3'}, H^{5'}), 6.54 (1H, д, $J=2.0$, H⁸), 6.28 (1H, д, $J=2.0$, H⁶).</p> <p>ЯМР ^{13}C (DMSO): 93.50 (C⁸), 98.21 (C⁶), 103.16 (C¹⁰), 115.42 (C^{3'}, C^{5'}), 121.74 (C^{1'}), 129.57 (C^{2'}, C^{6'}), 135.67 (C³), 146.81 (C²), 156.23 (C⁹), 159.25 (C^{4'}), 160.72 (C⁵), 163.96 (C⁷), 175.90 (C⁴).</p>
7	<p>Цинарозид (лютеолин-7-О-β-D-глюкопиранозид)</p> 	<p>ЯМР ^1H (Aceton-d₆ + D₂O): 3.42 (1H, т, $J=9.0$, H^{4'}), 3.49 (1H, т, $J=9.0$, H^{2''}), 3.56 (1H, т, $J=9.0$, H^{3''}), 3.60 (1H, м, H^{5''}), 3.68 (1H, дд, $J=12.2$, 5.6, H^{6a''}), 3.85 (1H, дд, $J=12.2$, 1.8, H^{6b''}), 5.10 (1H, д, $J=7.8$, H^{1''}), 6.44 (1H, д, $J=1.8$, H⁶), 6.63 (1H, s, H³), 6.83 (1H, д, $J=1.8$, H⁸), 6.95 (1H, д, $J=8.0$, H^{5'}), 7.41 (1H, д, $J=8.0$, H^{6'}), 7.43 (1H, уш.с., H²).</p> <p>ЯМР ^{13}C (Aceton-d₆ + D₂O): 61.7 (C^{6''}), 70.3 (C^{4''}), 73.8 (C^{2''}), 76.8 (C^{3''}), 77.4 (C^{5''}), 95.8 (C⁸), 100.5 (C⁶), 100.7 (C^{1''}), 103.7 (C³), 106.3 (C¹⁰), 113.8 (C^{2''}), 116.5 (C^{5'}), 120.3 (C^{6'}), 122.6 (C^{1'}), 146.3 (C^{3'}), 150.4 (C^{4'}), 158.0 (C⁹), 161.8 (C⁵), 163.9 (C⁷), 165.8 (C²), 183.1 (C⁴).</p>

8	<p>Рутин (3-О-рутинозид кверцетина)</p> 	<p>ЯМР ^1H (CD_3OD): 1.12 (3H, д, $J=6.3$, $\text{H}^{6''}$), 3.30- 3.85 (10H, м, $\text{H}^{2''}$, $\text{H}^{3''}$, $\text{H}^{4''}$, $\text{H}^{5''}$, $\text{H}^{6''\text{a}}$, $\text{H}^{6''\text{b}}$, $\text{H}^{2''''}$, $\text{H}^{3''''}$, $\text{H}^{4''''}$, $\text{H}^{5''''}$), 4.52 (1H, д, $J=1.5$, $\text{H}^{1''}$), 5.10 (1H, д, $J=7.5$, $\text{H}^{1''}$), 6.20 (1H, д, $J=2.1$, H^6), 6.38 (1H, д, $J=2.1$, H^8), 6.88 (1H, д, $J=8.4$, $\text{H}^{5'}$), 7.63 (1H, дд, $J=8.5$, 2.2, $\text{H}^{6'}$), 7.67 (1H, д, $J=2.05$, $\text{H}^{2'}$).</p> <p>ЯМР ^{13}C (CD_3OD): 18.0 ($\text{C}^{6''}$), 68.7 ($\text{C}^{6''}$), 69.9 ($\text{C}^{5''}$), 71.5 ($\text{C}^{4''}$), 72.3 ($\text{C}^{2''}$), 72.4 ($\text{C}^{3''}$), 74.1 ($\text{C}^{4''''}$), 75.9 ($\text{C}^{2''}$), 77.4 ($\text{C}^{5''}$), 78.3 ($\text{C}^{3''}$), 95.1 (C^8), 100.2 (C^6), 102.6 ($\text{C}^{1''''}$), 105.0 ($\text{C}^{1''}$), 105.8 (C^{10}), 116.3 ($\text{C}^{5'}$), 118.0 ($\text{C}^{2'}$), 123.4 ($\text{C}^{1'}$), 123.8 ($\text{C}^{6'}$), 135.9 (C^3), 146.1 ($\text{C}^{3'}$), 150.1 ($\text{C}^{4'}$), 158.8 (C^2), 159.7 (C^9), 163.3 (C^5), 166.3 (C^7), 179.7 (C^4).</p>
9	<p>Гиперозид (кверцетин-3-О-β-D-галактопиранозид)</p> 	<p>ЯМР ^1H (CD_3OD): 3.49 (1H, т, $J=6.0$, $\text{H}^{5''}$), 3.56 (1H, м, $\text{H}^{3''}$), 3.65 (2H, дд, $J=11.2$, 6.0, $\text{H}^{6''}$), 3.81 (1H, дд, $J=9.5$, 8.0, $\text{H}^{2''}$), 3.86 (1H, м, $\text{H}^{4''}$), 5.26 (1H, д, $J=7.6$, $\text{H}^{1''}$), 6.23 (1H, д, $J=2.0$, H^6), 6.43 (1H, д, $J=2.0$, H^8), 6.89 (1H, дд, $J=8.6$, 2.0, $\text{H}^{5'}$), 7.62 (1H, дд, $J=8.6$, 1.1, $\text{H}^{6'}$), 7.82 (1H, д, $J=2.0$, $\text{H}^{2'}$).</p> <p>ЯМР ^{13}C (CD_3OD): 62.10 ($\text{C}^{6''}$), 70.12 ($\text{C}^{4''}$), 73.25 ($\text{C}^{2''}$), 75.18 ($\text{C}^{3''}$), 77.37 ($\text{C}^{5''}$), 94.91 (C^8), 100.07 (C^6), 105.16 ($\text{C}^{1''}$), 105.66 (C^{10}), 116.39 ($\text{C}^{5'}$), 117.92 ($\text{C}^{2'}$), 123.16 ($\text{C}^{6'}$), 123.34 ($\text{C}^{1'}$), 135.66 (C^3), 146.12 ($\text{C}^{3'}$), 150.06 ($\text{C}^{4'}$), 158.56 (C^9), 158.92 (C^2), 163.19 (C^5), 166.13 (C^7), 179.61 (C^4).</p>