

Антикоагулянтная активность травы нонеи русской (*Nonea rossica* Steven)

О.М. Долганова, В.В. Величко, М.Е. Карташова, К.И. Ершов, Д.С. Круглов

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Антикоагулянты входят в протоколы лечения ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы. *Nonea rossica* Steven представляет научный интерес в качестве источника биологически активных соединений, обладающих свойствами непрямого антикоагулянта.

Цель исследования. Изучение антикоагулянтной активности суммарных извлечений из травы нонеи русской.

Материалы и методы. Сухой экстракт получали из травы с использованием 70% этанола, затем экстрагент удаляли. Исследование антикоагулянтного действия проводили *in vivo* (36 крыс-самцов линии Wistar) с использованием протромбинового теста. В качестве препарата сравнения использовали варфарин в дозах, рекомендованных инструкцией по применению.

Результаты. Исследуемый экстракт в дозе 1.7 г/кг показал антикоагулянтную активность, сопоставимую с препаратом сравнения (протромбиновое время – 31.3 ± 1.27 и 33.42 ± 1.33 с соответственно).

Заключение. Нонея русская – перспективное растение для внедрения в медицинскую практику в качестве антикоагулянтного средства непрямого типа действия.

Ключевые слова: нонея русская, *Nonea rossica* Steven, непрямой антикоагулянт, варфарин.

Образец цитирования: Долганова О.М., Величко В.В., Карташова М.Е., Ершов К.И., Круглов Д.С. Антикоагулянтная активность травы нонеи русской (*Nonea rossica* Steven) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2023;7(4):68-76. DOI: 10.31549/2542-1174-2023-7-4-68-76

Anticoagulant activity of *Nonea rossica* Steven herb

O.M. Dolganova, V.V. Velichko, M.E. Kartashova, K.I. Ershov, D.S. Kruglov

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

Introduction. Anticoagulants are included in the treatment protocols for several cardiovascular diseases. *Nonea rossica* Steven is of scientific interest as a source of biologically active compounds with the properties of an indirect anticoagulant.

Aim. Study of anticoagulant activity of total extracts from *Nonea rossica* Steven herb.

Materials and methods. A dry extract was obtained from the herb using 70% ethanol, then the extractant was removed. The anticoagulant effect was studied *in vivo* (36 male Wistar rats) using a prothrombin time test. As a reference drug, warfarin was used in doses recommended by the patient information leaflet.

Results. The extract studied at a dose of 1.7 g/kg showed anticoagulant activity comparable to the reference drug (prothrombin time is 31.3 ± 1.27 and 33.42 ± 1.33 s, respectively).

Conclusion. *Nonea rossica* Steven is a promising plant for practical as an indirect anticoagulant.

Citation example: Dolganova O.M., Velichko V.V., Kartashova M.E., Ershov K.I., Kruglov D.S. Anticoagulant activity of *Nonea rossica* Steven herb. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2023;7(4):68-76. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-7-4-68-76

Поступила в редакцию 20.02.2023
Прошла рецензирование 10.03.2023
Принята к публикации 30.03.2023

Автор, ответственный за переписку
Величко Виктория Владимировна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: velichkvik@rambler.ru

Received 20.02.2023
Revised 10.03.2023
Accepted 30.03.2023

Corresponding author
Victoria V. Velichko: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasnyy prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: velichkvik@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Изменения в системе гемостаза играют ключевую патогенетическую роль при развитии патологических состояний, в частности, сердечно-сосудистой системы (инфаркт миокарда, инсульт, тромбоэмболия и др.). Протоколы лечения заболеваний, сопровождающихся склонностью к тромбообразованию, включают антикоагулянтные средства. Выделяют 2 группы антикоагулянтов: прямые – быстрого действия (гепарин), эффективные *in vitro* и *in vivo*, и непрямые (антагонисты витамина К) – длительного действия (варфарин, фениндион, аценокумарол), действуют только *in vivo* и после латентного периода, конкурентно ингибируют редуктазу витамина К, чем тормозят активирование последнего в организме и блокируют синтез К-витаминзависимых плазменных факторов гемостаза – II, VII, IX, X [1].

Одним из основных преимуществ антикоагулянтов непрямого типа действия является возможность их длительного применения, что позволяет проводить не только лечение, но и профилактику тромбозов и тромбоэмболий. Свойствами антикоагулянта непрямого действия обладают соединения на основе 4-гидроксикумарина – дикумарин (3,3'-метил-ди-4-гидроксикумарин), синкумар (4-гидрокси-3-[1-(4-нитрофенил)-3-оксобутил]-кумарин), варфарин (4-гидрокси-3-(3-оксо-1-фенилбутил)-кумарин). На сегодняшний день в стандартах лечения наиболее широко применяется препарат «Варфарин» [2].

Известны антикоагулянтные свойства растений, которые обусловлены содержанием в них гликопептидов и фенилпропановидных соединений, флавоноидов и их изомеров [2]. Препараты на основе пептидных соединений являются антикоагулянтами прямого действия [3] со всеми присущими им недостатками. С точки зрения источников биологически активных соединений (БАС), обладающих свойствами непрямого антикоагулянта, представляют интерес растения рода *Nonea* семейства бурачниковые (*Boraginaceae*). Представители рода *Nonea* обладают антикоагулянтными [4, 5], противовоспалительными, противомикробными [6], противогрибковыми и антиоксидантными свойствами [7]. Суммарные извлечения из *Nonea micrantha* Boiss. & Reut. оказывают ингибирующее действие на ацетилхолинэстеразу и бутирилхолинэстеразу, что делает этот вид перспективным для фитотерапии неврологических расстройств [8]. В России наиболее часто встречаются 5 видов рода *Nonea*: noneя

INTRODUCTION

Changes in the hemostatic system play a key pathogenetic role in the development of pathological conditions, in particular, the cardiovascular system (myocardial infarction, stroke, thromboembolism, etc.). Treatment protocols for diseases accompanied by a tendency to thrombosis include anticoagulants. There are 2 groups of anticoagulants: direct-acting (heparin), effective *in vitro* and *in vivo*, and indirect-acting (vitamin K antagonists) (warfarin, phenindione, acenocoumarol), that act only *in vivo* and after latency, competitively inhibit vitamin K reductase, thus impeding the activation of the latter and suppressing the synthesis of vitamin K-dependent factors II, VII, IX, X in the body [1].

One of the major advantages of indirect anticoagulants is the possibility of their long-term use, which allows not only treatment, but also prevention of thrombosis and thromboembolism. Properties of an indirect anticoagulant have compounds based on 4-hydroxycoumarin – dicoumarin (3,3'-methyl-di-4-hydroxycoumarin), syncumar (4-hydroxy-3-[1-(4-nitrophenyl)-3-oxobutyl]-coumarin), warfarin (4-hydroxy-3-(3-oxo-1-phenylbutyl)-coumarin). To date, warfarin is the most widely used in clinical practice [2].

Anticoagulant properties of plants are known. This properties are due to the content of glycopeptides and phenylpropanoid compounds, flavonoids and their isomers [2]. Peptide drugs are direct anticoagulants [3] with all inherent disadvantages. From the viewpoint of sources of biologically active compounds (BAC) with the properties of an indirect anticoagulant, plants of the genus *Nonea* of the *Boraginaceae* family are of interest. Representatives of the genus *Nonea* have anticoagulant [4, 5], anti-inflammatory, antimicrobial [6], antifungal and antioxidant properties [7]. Total extracts from *Nonea micrantha* Boiss. & Reut. have an inhibitory effect on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase, which makes this species promising for herbal therapy of neurological disorders [8]. In Russia, 5 species of the *Nonea* genus are most common: *Nonea lutea* Rchb. ex DC., *Nonea flavescens* Fisch., *Nonea rosea* Link., *Nonea caspica* G. Don, and *Nonea rossica* Steven, of which only *Nonea rossica* Steven has an extensive distribution area and a sufficient resource potential for harvesting in our country [9]. *Nonea rossica* Steven is not used as an official preparation because of the low level of its study, however, taking into account the experience of folk medicine and phylogenetic affinity with other species of the genus, it can be assumed that anticoagulant properties are present in extracts

желтая – *Nonea lutea* Rchb. ex DC., noneя желтеющая – *Nonea flavescens* Fisch., noneя розовая – *Nonea rosea* Link., noneя каспийская – *Nonea caspica* G. Don. и noneя русская – *Nonea rossica* Steven, из которых только noneя русская имеет обширный ареал и достаточную ресурсную базу для заготовки на территории нашей страны [9]. Noneя русская вследствие малой изученности в официальной медицине не используется, однако с учетом данных народной медицины и филогенетического родства с другими видами рода можно предполагать наличие антикоагулянтных свойств у извлечений из травы noneи русской. В ходе проведенных нами исследований было установлено наличие в составе БАС noneи русской таких групп, как оксикоричные кислоты, флавоноиды, полифлавановые соединения, полисахариды, кумарины и сапонины [10]. Также была выявлена избирательная активность извлечений из noneи русской в отношении *Staphylococcus aureus*, что связано с наличием в ее составе флавоноидного комплекса – noneазиды и кофейной кислоты [11]. Наряду с бактерицидным действием наличие в составе кумариновых соединений может обуславливать антикоагулянтную активность извлечений из травы noneи русской.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение антикоагулянтной активности суммарных извлечений из травы noneи русской.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили настой и сухой экстракт из надземной части noneи русской. Образцы исследуемых растений были собраны в окрестностях с. Воробьево Колыванского района Новосибирской области (55°31' северной широты, 82°57' восточной долготы) на остепненном луге в период цветения в июле 2022 г. Собранное сырье доводилось до воздушно-сухого состояния (воздушно-теневая сушка без доступа прямого солнечного света).

Для уточнения состава БАС кумариновой природы в лекарственном растительном сырье (ЛРС) noneи русской было получено извлечение с использованием в качестве экстрагента 95% спирта этилового (соотношение 1:50) по общепринятой методике [12]. К полученному фильтрату приливали равный объем 5% спиртового раствора калия гидроксида и слегка подогревали. Раствор с образовавшимся осадком центрифугировали со скоростью 8000 об./мин в течение 10 мин, осадок высушивали и взвешивали. Затем растворяли осадок в воде очищенной и определяли ультрафиоле-

from *Nonea rossica* Steven herb. Our studies showed the presence of hydroxycinnamic acids, flavonoids, polyflavane compounds, polysaccharides, coumarins and saponins in the *Nonea rossica* composition [10]. The selective anti-*Staphylococcus aureus* activity of extracts from *Nonea rossica* Steven was also revealed, which is because of the presence of a flavonoid complex – noneazide and caffeic acid – in its composition [11]. Along with the bactericidal effect, the coumarin compounds of *Nonea rossica* Steven may cause anticoagulant activity of extracts from the herb.

AIM OF THE RESEARCH

Study of anticoagulant activity of total extracts from *Nonea rossica* Steven herb.

MATERIALS AND METHODS

The study objects were an infusion and a dry extract from the aboveground part of *Nonea rossica* Steven. Samples of the plant were collected in the vicinity of the village of Vorobyovo, Kolyvansky district, Novosibirsk region (latitude: 55°31', North, longitude: 82°57', East) in a steppe meadow during the flowering phase in July 2022. The collected raw materials were brought to an air-dry state (air-drying in the shade).

To clarify the composition of coumarin BAC in medicinal raw materials of *Nonea rossica*, an extraction was obtained using 95% ethyl alcohol as a solvent (ratio 1:50) according to the conventional method [12]. An equal volume of a 5% ethanolic potassium hydroxide solution was added to a filtrate obtained and slightly heated. The solution with a precipitate was centrifuged at 8000 rpm for 10 min; the precipitate was dried and weighed. Then the precipitate was dissolved in purified water, and an ultraviolet (UV) absorption spectrum was determined using a SF-56 spectrophotometer (OKB Spectr LLC, Russia).

The study of anticoagulant activity was carried out *in vivo*, for which appropriate dosage forms were obtained. To obtain a dry extract, the raw material was crushed to a particle size of 1 mm, placed in a flask and filled with 70% ethyl alcohol at a ratio of 1:20. The flask was heated under reflux in a water bath at 55°C for 60 min, cooled with continuous stirring for 60 min. After cooling, the extract was centrifuged at 8000 rpm for 15 min to remove fine impurities. A supernatant was drained, and the extraction was evaporated by convective drying at 30–40°C.

товый (УФ) спектр извлечения на спектрофотометре СФ-56 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Исследование антикоагулянтного действия проводили *in vivo*, для чего получали соответствующие лекарственные формы. Для получения сухого экстракта сырье измельчали до размера частиц 1 мм, помещали в колбу и заливали 70% спиртом этиловым в соотношении 1:20. Колбу с присоединенным обратным холодильником выдерживали на водяной бане при температуре 55 °С в течение 60 мин, охлаждали при непрерывном перемешивании в течение 60 мин. После охлаждения экстракт центрифугировали со скоростью 8000 об./мин в течение 15 мин для удаления мелкодисперсных примесей. Надосадочную жидкость сливали и извлечение упаривали конвективной сушкой при температуре 30–40 °С.

Настой получали по общепринятой методике. Сырье, измельченное до размера частиц 1 мм, помещали в колбу и заливали водой в соотношении 1:20 и выдерживали на кипящей водяной бане 1 ч, охлаждали при непрерывном перемешивании в течение 1 ч. После охлаждения фильтровали.

В качестве препарата сравнения был выбран препарат «Варфарин» – основной антикоагулянт непрямого типа действия в рутинной клинической практике.

Эксперимент *in vivo* проведен на 36 крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 г. Животные находились в стандартных условиях вивария на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде и пище. Условия содержания и манипуляции с животными соответствовали стандартам, установленным в нормативных документах, регламентирующих работу с лабораторными животными (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», Хельсинкская декларация о гуманном обращении с животными (1996)). Все экспериментальные манипуляции и забор образцов проводили в одно и то же время.

Животные были разделены на четыре группы (табл. 1), в каждой по 9 крыс. Всем крысам один раз в сутки в течение 4 дней внутривенно вводили растворы в объеме 0.5 мл на 100 г массы тела животного. Животным первой группы (интактная) вводили дистиллированную воду; животные второй группы получали настой травы нонеи русской из расчета на сухой вес – 1.7 г/кг; животные третьей группы получали спиртовой экстракт из травы нонеи русской в аналогичной дозе; четвертая группа (контрольная) получала препарат сравнения – варфарин в дозе 0.215 мг/кг.

An infusion was obtained according to the conventional technique. The raw material, crushed to a particle size of 1 mm, was placed in a flask with water at a ratio of 1:20 and incubated in a boiling water bath for 1 h, cooled with continuous stirring for 1 h. After cooling, it was filtered.

As a reference drug, warfarin was chosen – the main indirect anticoagulant in routine clinical practice.

The *in vivo* experiment was carried out on 36 Wistar male rats weighing 200–220 g. The animals were kept under standard conditions of the vivarium with normal diet and free access to water and food. The conditions of keeping and manipulations of animals complied with the standards established in the regulatory documents concerning experiments involving laboratory animals (Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 199n, 01.04.2016 “On Approval of the Rules of Good Laboratory Practice”; Declaration of Helsinki (1996)). All experimental manipulations and sampling were carried out at the same time.

The animals were divided into four groups (Table 1), 9 rats in each. Solutions in the volume of 0.5 ml per 100 g of body were administered to all rats intragastrically once a day for 4 days. Distilled water was administered to animals of the first group (intact); animals of the second group received infusion of *Nonea rossica* herb at a dose of 1.7 g/kg on dry weight basis; animals of the third group received the *Nonea rossica* ethanolic extract at a similar dose; the fourth group (control) received a reference drug, warfarin, at a dose of 0.215 mg/kg.

The anticoagulant activity was assessed using a prothrombin time test. Accomplish this, on the fifth day blood was taken from the tail vein from anesthetized animals into test tubes with 5.5-aqueous sodium citrate 3.8% at a ratio of 1:9. To obtain blood plasma, centrifugation was performed at 3000 rpm for 15 min at 18 to 25°C. The resulting plasma was transferred to clean test tubes. The determination of prothrombin time (PT) was performed using an APG4-402P coagulometer (Technomedica LLC, Russia) and Thromboplastin kit for determining PT *in vitro* (SPD Renam, Russia). The method is based on determining the clotting time of citrated plasma under the action of a mixture of thromboplastin and calcium ions. The time from the addition of thromboplastin and calcium ions to the test plasma until the fibrin clot formation was assessed. The time of fibrin clot formation depends on the activity of factors of the extrinsic and intrinsic coagulation pathways (II, V, VII, X). For this, 50 µl of the tested plasma was heated

Таблица 1. Дизайн исследования
Table 1. The study design

Группа животных Group of animals	Вводимые растворы / Injected solutions	Доза / Dose
1	Дистиллированная вода / Distilled water	–
2	Водный экстракт травы нонеи русской Aqueous extract of <i>Nonea rossica</i> herb	1.7 г/кг (g/kg)
3	Спиртовой экстракт травы нонеи русской Ethanol extract of <i>Nonea rossica</i> herb	1.7 г/кг (g/kg)
4	Варфарин / Warfarin	0.215 мг/кг (mg/kg)

Оценку антикоагулянтного действия проводили с использованием протромбинового теста. Для этого у наркотизированных животных на пятые сутки из хвостовой вены брали кровь в пробирки с 3.8% 5,5-водным цитратом натрия в соотношении 1:9. Для получения плазмы крови проводили центрифугирование при 3000 об./мин в течение 15 мин при температуре от 18 до 25 °C. Полученную плазму переносили в чистые пробирки. Определение протромбинового времени (ПВ) проводили на автоматическом коагулометре АПГ4-402П (ООО НПП «Техномедика», Россия) с использованием набора реагентов для определения ПВ *in vitro* «Тромбопластин» (НПО «Ренам», Россия). Метод основан на определении времени свертывания цитратной плазмы крови под действием смеси тромбопластина и ионов кальция. Определяли время от момента добавления тромбопластина и ионов кальция к исследуемой плазме до момента образования сгустка фибрина. Время образования сгустка фибрина зависит от активности факторов внешнего и общего путей свертывания (II, V, VII, X). Для этого 50 мкл исследуемой плазмы прогревали при температуре 37 °C в течение 1 мин, затем добавляли 100 мкл тромбопластин-кальциевой смеси и фиксировали время образования сгустка.

По результатам экспериментов статистически вычисляли среднее значение выборки и стандартную ошибку среднего. Использовали пакет программ STATISTICA 8.0 (StatSoft, Inc., США). Проверка нормальности распределения количественных признаков проведена с использованием критерия Шапиро – Уилка. Достоверность различий между группами оценивали по критерию Манна – Уитни. Различия считались достоверными при $p = 0.95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенная реакция со спиртовым раствором калия гидроксида, известная как лактонная проба, дала положительный результат, что под-

at 37°C for 1 min, then 100 µl of a thromboplastin-calcium mixture was added, and the time of clot formation was noted.

Based on the results of the experiments, the mean value of the sample and the standard error of the mean were statistically calculated. We used STATISTICA 8.0 software (StatSoft, Inc., USA). The normality of distribution of quantitative characteristics was evaluated using the Shapiro-Wilk test. The significance of differences between the groups was assessed by the Mann-Whitney test. The differences were significant at $p = 0.95$.

RESULTS AND DISCUSSION

The reaction with an ethanolic solution of potassium hydroxide, known as a coumarin test, gave a positive result, which confirmed the presence of substances of coumarin nature in the composition of *Nonea rossica* herb. Analysis of the obtained UV spectrum of extraction (Fig. 1) allowed us to conclude that 2-hydroxycinnamic acid was present in the extraction.

Indeed, the standard sample of 2-hydroxycinnamic acid has 2 characteristic minimal peaks (at 240 and 295 nm) and two maximal ones (at 266 and 311 nm), and the extraction under study also has two minimal peaks (at 241 and 297 nm) and two maximal ones (at 267 and 314 nm). The similarity of the spectra suggests, a precipitate obtained during the coumarin test sample, comprises 2-hydroxycinnamic acid, which was formed because of the alkaline hydrolysis of a coumarin nature substance (Fig. 2).

The content of 2-hydroxycinnamic acid, taking into account the mass of the resulting precipitate, was $0.7 \pm 0.1\%$.

To assess the anticoagulant activity, the method and frequency of drug administration were chosen – in our study, we took as a basis the patient information leaflet for warfarin, according to which for patients who had not taken the drug, the initial dose is 5 mg/day (2 tablets) during the first 4 days

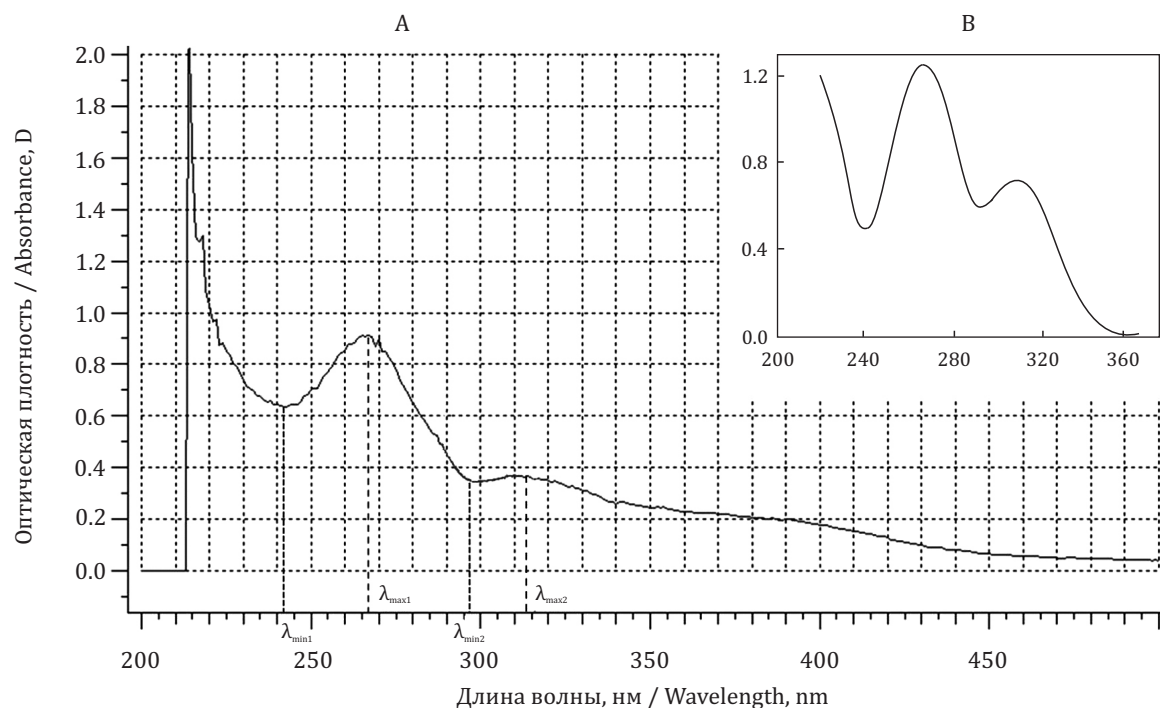


Рис. 1. УФ-спектр исследуемого раствора (А) и 2-гидроксикоричной кислоты (В) [13]
Fig. 1. The UV spectrum of the test solution (A) and 2-hydroxycinnamic acid (B) [13]

твердило присутствие в составе травы нонеи русской веществ кумариновой природы. Анализ полученного УФ-спектра извлечения (рис. 1) позволил сделать вывод о наличии в извлечении 2-гидроксикоричной кислоты.

Действительно, стандартный образец 2-гидроксикоричной кислоты имеет 2 характерных минимума (при 240 и 295 нм) и два максимума (при 266 и 311 нм), а исследуемое извлечение также имеет два минимума (при 241 и 297 нм) и два максимума (при 267 и 314 нм). Близость спектров позволяет утверждать, что полученный в результате лактонной пробы осадок состоит из 2-гидроксикоричной кислоты, которая образовалась в результате щелочного гидролиза вещества кумариновой природы (рис. 2).

Содержание 2-гидроксикоричной кислоты с учетом массы полученного осадка составило 0.7 ± 0.1 %.

of therapy. On the 5th day, the international normalized ratio (INR) is determined and, under this indicator, a maintenance dose of the drug is prescribed. In this experiment, we used the dose of warfarin in terms of weight (in kilograms) and considering the interspecies dose transfer coefficient [14]. During the study, it was found that PT in rats with the administration of warfarin at a dose of 0.215 mg/kg increases 2.5 times relative to the control values (Table 2).

After administration of a 10% infusion of *Nonea rossica* herb to animals at a dose of 1.7 g/kg once a day for 4 days, on the 5th day the anticoagulant activity of blood plasma did not change relative to the control values. This fact is explained by the absence of the coumarin fractions in the aqueous extraction, which are the leading inhibitors of the synthesis of coagulation factors (indirect-acting anticoagulants) of plant origin.

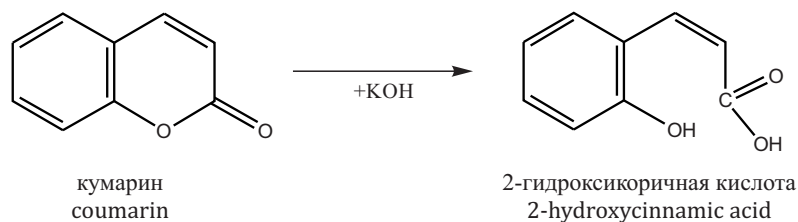


Рис. 2. Щелочной гидролиз кумарина
Fig. 2. Alkaline hydrolysis of coumarin

Таблица 2. Результаты протромбинового теста у крыс на 5-е сутки эксперимента
Table 2. Results of the prothrombin time test in rats on the 5th day of the experiment

Группа животных / Group of animals	Протромбиновое время, с Prothrombin time, s
Дистиллированная вода (контроль) / Distilled water (control)	13.63 ± 0.98
Водный экстракт травы нонеи русской / Aqueous extract of <i>Nonea rossica</i> herb	13.7 ± 0.85
Спиртовой экстракт травы нонеи русской / Ethanol extract of <i>Nonea rossica</i> herb	31.3 ± 1.27*
Варфарин / Warfarin	33.42 ± 1.33*

* Достоверность различий по сравнению с контролем $p < 0.001$.* Significance of differences compared to the control $p < 0.001$.

Для оценки антикоагулянтной активности был выбран способ и кратность введения препаратов – в нашем исследовании мы взяли за основу инструкцию по применению варфарина, согласно которой для пациентов, не принимавших ранее препарат, начальная доза составляет 5 мг/сут (2 таблетки) в течение первых 4 дней терапии. На 5-й день лечения определяется международное нормализованное отношение (МНО) и, в соответствии с этим показателем, назначается поддерживающая доза препарата. В данном эксперименте мы использовали дозу варфарина в перерасчете на массу (в килограммах) и с учетом коэффициента межвидового переноса доз [14]. В ходе исследования установлено, что ПВ у крыс при введении варфарина в дозе 0.215 мг/кг увеличивается в 2.5 раза относительно контрольных значений (табл. 2).

После введения 10% настоя травы нонеи русской животным в дозировке 1.7 г/кг 1 раз в день в течение 4 дней на 5-е сутки антикоагулянтная активность плазмы крови не изменялась относительно контрольных значений. Данный факт объясняется отсутствием при водном способе экстрагирования фракции кумаринов в растворе, которые и являются ведущими ингибиторами синтеза факторов свертываемости крови (непрямыми антикоагулянтами) растительного происхождения.

Введение животным экстрактов, полученных при экстрагировании 70% этиловым спиртом в дозе 1.7 г/кг, продемонстрировало увеличение ПВ в 2.3 раза (по сравнению с контролем) и эквивалентное действие в сравнении с синтетическим препаратом сравнения – варфарином.

Установленная антикоагулянтная активность именно спиртового извлечения и отсутствия таковой у водного обусловлена гидрофобными свойствами кумаринсодержащих соединений и соответственно их отсутствием в водных растворах. Можно с высокой степенью вероятности предполагать наличие в составе нонеи русской

The administration to animals of extracts obtained by 70% ethyl alcohol extraction at a dose of 1.7 g/kg showed a 2.3-fold increase in PT (compared with the control) and an equivalent effect in comparison with the synthetic reference drug, warfarin.

The revealed anticoagulant activity specifically of ethanolic extraction and the absence of such in aqueous one is due to the hydrophobic properties of coumarin-containing compounds, and, hence, their absence in aqueous solutions. It is possible to assume with a high probability the presence of coumarin oxyderivatives in the composition of *Nonea rossica* (for example, 4-oxy-coumarin), which have possibilities to inhibit the synthesis of plasma proteins such as prothrombin, proconvertin, Christmas and Stuart factors in the liver. According to phytochemical study, coumarin or coumarin-like substances [15] (positive coumarin test) and their derivatives are present in the aboveground part of *Nonea rossica*, which inhibit the synthesis of vitamin K-dependent hemostatic plasma factors and exhibit the properties of an indirect anticoagulant.

During the administration of the extracts, the condition of the rats was satisfactory. The administration of drugs for 4 days did not lead to a significant change in body weight relative to the controls. The rats showed no signs of anxiety; no changes in appetite, secretions, the condition of mucous membranes, hair, skin were recorded.

CONCLUSION

The results obtained allow us to consider *Nonea rossica* Steven as a promising plant for introduction into medical practice as an indirect-acting anticoagulant agent.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

оксипроизводных кумарина (например, 4-оксикумарина), которые обладают свойствами ингибировать в печени синтез белков плазмы крови протромбина, проконвертина, факторов Кристмаса и Стюарта. По данным фитохимического скрининга в надземной части нонеи русской присутствуют кумарин или кумариноподобные вещества [15] (положительная лактоная проба) и их дериваты, которые подавляют синтез К-витамин-зависимых плазменных факторов гемостаза и проявляют свойства непрямого антикоагулянта.

Во время введения экстрактов состояние крыс было удовлетворительным. Введение препаратов в течение 4 дней не привело к достоверному изменению массы тела относительно контроль-

ной группы животных. Крысы не проявляли признаков беспокойства, не было зафиксировано изменения аппетита, выделений, состояния слизистых, шерсти, кожи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют рассматривать нонею русскую в качестве перспективного растения для внедрения в медицинскую практику в качестве антикоагулянтного средства непрямого типа действия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гуляйкина Д.Е. Влияние варфарина, гепарина и новых пероральных прямых антикоагулянтов (дабигатрана этексилата, ривароксабана, апиксабана) на уровень факторов свертывания: V, VII, VIII, IX, XII, WF // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. 2019;11(1):79-92. DOI: 10.17816/mechnikov201911179-92.
2. Бояринцев Д.И., Калинин Е.П., Ральченко И.В., Рудзевич Е.Л. Природные соединения с антикоагулянтным действием (обзор) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(2):3-10. DOI: 10.29296/25877313-2019-02-01.
3. Губаев А.Г. Фармакологические свойства антикоагулянта прямого действия из травы нонея темная: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Тюмень, 1996. 20 с.
4. Николаев Н.А., Ливазан М.А., Скирденко Ю.П., Мартынов А.И. Биологически активные растения и грибы Сибири в клинической медицине: в 2 т. / Омский гос. мед. ун-т. М.: Академия Естествознания, 2019. Т. 2. 382 с.
5. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / отв. ред. А.Л. Буданцев. СПб.; М.: Товарищество научных изданий КМК, 2011. Т. 4: Семейства Caprifoliaceae – Lobeliaceae. 630 с.
6. Mohammed H.M., Abdullah F.O. Microwave-assisted extraction and phytochemical profile of *Nonea pulmonarioides* and its antifungal, antibacterial, and antioxidant activities // J. Food Qual. 2022;2022:5135880. DOI: 10.1155/2022/5135880.
7. Altundag E., Ozturk M. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey // Procedia – Social and Behavioral Sciences. 2011;19:756-777.
8. Imran M., Ullah F., Ayaz M. et al. Anticholinesterase and antioxidant potentials of *Nonea micrantha* Bioss. & Reut along with GC-MS analysis // BMC Compl. Alternat. Med. 2017;17(1):499. DOI: 10.1186/s12906-017-2004-9.
9. Флора СССР / Ботанический ин-т им. В.Л. Комарова АН СССР; гл. ред. акад. В.Л. Комаров. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953. Т. 19. 751 с.

REFERENCES

1. Gulyaikhina D.E. The effect of warfarin, heparin, and modern directly acting oral anticoagulants (dabigatran etexilate, rivaroxaban, apixaban) on the level of coagulation factors: V, VII, VIII, IX, XII, WF. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov*. 2019;11(1):79-92. DOI: 10.17816/mechnikov201911179-92. (In Russ.)
2. Boyarintsev D.I., Kalinin E.P., Ralchenko I.V., Rudzевич E.L. Natural compounds with anticoagulant action (review). *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2019;22(2):3-10. DOI: 10.29296/25877313-2019-02-01. (In Russ.)
3. Gubaev A.G. (1996). Pharmacological properties of a direct-acting anticoagulant from *Nonea pulla* (L.) DC herb. Cand. Sci. (Med.) Thesis. Tyumen. 20 p. (In Russ.)
4. Nikolaev N.A., Livazan M.A., Skirdenko Yu.P., Martynov A.I. (2019). *Biologically Active Plants and Fungi of Siberia in Clinical Medicine*: in 2 volumes; Omsk State Medical University. Moscow: Academy of Natural Sciences. Vol. 2. 382 p. (In Russ.)
5. Budantsev A.L. (ed.) (2011). *Plant Resources of Russia: Wild Flowering Plants, Their Composition and Biological Activity*. St. Petersburg; Moscow. Vol. 4: Caprifoliaceae-Lobeliaceae Families. 630 p. (In Russ.)
6. Mohammed H.M., Abdullah F.O. Microwave-assisted extraction and phytochemical profile of *Nonea pulmonarioides* and its antifungal, antibacterial, and antioxidant activities. *J. Food Qual.* 2022;2022:5135880. DOI: 10.1155/2022/5135880.
7. Altundag E., Ozturk M. Ethnomedicinal studies on the plant resources of east Anatolia, Turkey. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*. 2011;19:756-777.
8. Imran M., Ullah F., Ayaz M. et al. Anticholinesterase and antioxidant potentials of *Nonea micrantha* Bioss. & Reut along with GC-MS analysis. *BMC Compl. Alternat. Med.* 2017;17(1):499. DOI: 10.1186/s12906-017-2004-9.
9. V.L. Komarov (chief ed.) (1953). *Flora of the USSR*; V.L. Komarov Botanical Institute of the USSR Academy of Sciences. Moscow; Leningrad: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR. Vol. 19. 751 p. (In Russ.)

10. Карташова М.Е., Величко В.В. Нонея русская – перспективное лекарственное растение // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации: сборник материалов IX Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Орехово-Зуево, 25 ноября 2022 г.). Орехово-Зуево, 2022. С. 118–121.
11. Olennikov D.N., Kartashova M.E., Velichko V.V., Kruglov D.S. New flavonoids from *Nonea rossica* and *Tournefortia sibirica* // Chemistry of Natural Compounds. 2022;58(6):1021-1025. DOI: 10.1007/s10600-022-03858-9.
12. Кубасова Е.Д., Корельская Г.В., Суханов А.Е. и др. Обнаружение и количественное определение кумаринов в растительном сырье любистока лекарственного, произрастающего в Архангельской области // Международный научно-исследовательский журнал. 2021;10-1(112):145-148/ DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.024.
13. Ohno T. Oxidation of phenolic acid derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity // J. Environ. Qual. 2001;30(5):1631-1635. DOI: 10.2134/jeq2001.3051631x.
14. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. 944 с.
15. Величко В.В., Карташова М.Е., Круглов Д.С. Фитохимическое и ботаническое исследование перспективного лекарственного растения *Nonea rossica* Steven // Journal of Siberian Medical Sciences. 2022;6(3):90-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-90-101.
10. Kartashova M.E., Velichko V.V. (2022). *Nonea rossica* is a promising medicinal plant. In *Prospects for the introduction of Innovative Technologies in Medicine and Pharmacy*: collection of proceeds of the IX All-Russian Scientific and Practical Conference with International participation (Orekhovo-Zuyevo, November 25, 2022). Orekhovo-Zuyevo, p. 118–121. (In Russ.)
11. Olennikov D.N., Kartashova M.E., Velichko V.V., Kruglov D.S. New flavonoids from *Nonea rossica* and *Tournefortia sibirica*. *Chemistry of Natural Compounds*. 2022;58(6):1021-1025. DOI: 10.1007/s10600-022-03858-9.
12. Kubasova E.D., Korelskaya G.V., Sukhanov A.E. et al. Detection and quantitative determination of coumarins in the plant raw materials of the medicinal plant growing in Arkhangelsk oblast. *International Research Journal*. 2021;10-1(112):145-148/ DOI: 10.23670/IRJ.2021.112.10.024. (In Russ.)
13. Ohno T. Oxidation of phenolic acid derivatives by soil and its relevance to allelopathic activity. *J. Environ. Qual.* 2001;30(5):1631-1635. DOI: 10.2134/jeq2001.3051631x.
14. Mironov A.N., Bunyatyan N.D., Vasiliev A.N. et al. (2012). *Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines*. Moscow. Grif i K. 944 p. (In Russ.)
15. Velichko V.V., Kartashova M.E., Kruglov D.S. Phytochemical and botanical study of a promising medicinal plant *Nonea rossica* Steven. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2022;6(3):90-101. DOI: 10.31549/2542-1174-2022-6-3-90-101.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Долганова Ольга Михайловна – канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Величко Виктория Владимировна – канд. фармацевт. наук, заведующий кафедрой фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9224-9350

Карташова Марина Елвардовна – аспирант, преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Ершов Константин Игоревич – канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия.

Круглов Дмитрий Семенович – канд. техн. наук, доцент кафедры фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-6027-5730.

ABOUT THE AUTHORS

Olga M. Dolganova – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Medical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Victoria V. Velichko – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Head, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0000-0002-9224-9350

Marina E. Kartashova – Post-Graduate Student, Lecturer, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Konstantin I. Ershov – Cand. Sci. (Bio.), Associate Professor, Department of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia.

Dmitry S. Kruglov – Cand. Sci. (Tech.), Associate Professor, Department of Pharmacognosy and Botany, Novosibirsk State Medical University. ORCID: 0000-0002-6027-5730.