



Оригинальная статья / Research article

Фенольные соединения и фармакологический скрининг экстракта травы цикория обыкновенного

О. Л. Сайбель*, А. И. Радимич, Т. Д. Даргаева, И. А. Лупанова, Е. В. Ферубко, Е. Н. Курманова, И. А. Мартынчик

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ВИЛАР), 117216, Россия, г. Москва, ул. Грина, д. 7, стр. 1

*Контактное лицо: Сайбель Ольга Леонидовна. E-mail: saybel@vilarii.ru

ORCID: О. Л. Сайбель – <https://orcid.org/0000-0001-8059-5064>; А. И. Радимич – <https://orcid.org/0000-0002-1139-8902>; Т. Д. Даргаева – <https://orcid.org/0000-0002-0722-9479>;
И. А. Лупанова – <https://orcid.org/0000-0001-8183-2877>; Е. В. Ферубко – <https://orcid.org/0000-0003-1949-2597>; Е. Н. Курманова – <https://orcid.org/0000-0002-9243-5268>;
И. А. Мартынчик – <https://orcid.org/0000-0001-7081-5545>.

Статья поступила: 07.09.2021

Статья принята в печать: 17.11.2021

Статья опубликована: 25.11.2021

Резюме

Введение. Цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.) широко используется в традиционной медицине различных стран при заболеваниях печени, а также является объектом фармакологических исследований гепатопротекторной активности. В связи с этим во Всероссийском научно-исследовательском институте лекарственных и ароматических растений разработан способ получения сухого экстракта из травы дикорастущего цикория (ЭТДЦ).

Цель. Цель исследования – определение качественного состава фенольных соединений, выявление веществ, преобладающих в ЭТДЦ, и проведение фармакологического скрининга исследуемого экстракта.

Материалы и методы. Химический состав ЭТДЦ изучали с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС, количественное определение основных компонентов проводили методом ВЭЖХ-УФ с использованием индивидуальных соединений, выделенных нами ранее и идентифицированных методом ЯМР-спектроскопии. Проведение фармакологического скрининга гепатопротективной активности ЭТДЦ проводили на 50 крысах-самцах. Острый токсический гепатит у животных вызывали однократным подкожным введением 50 % масляного раствора тетрахлорметана (ТХМ) в дозе 0,4 мл на 100 г массы тела. За час до введения ТХМ животные получали ЭТДЦ в дозах 100 или 500 мг/кг. Через 48 часов после введения ТХМ определяли активность сывороточных ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), а также содержание общего билирубина для предварительного установления фармакологической активности. Патоморфологические исследования печени крыс проводили с использованием гистологических методик. Гистологическое строение печени оценивали, используя срезы печени, окрашенные гематоксилином и эозином.

Результаты и обсуждение. Компонентный состав ЭТДЦ представлен оксикумаринами, гидроксикоричными кислотами и флавоноидами. Доминирующими фенольными соединениями являются эскулетин, цикориин, цикориевая, хлорогеновая и кафтаровая кислоты. В условиях острого экспериментального токсического гепатита было установлено, что предварительное введение ЭТДЦ снижает вызванное ТХМ токсическое действие на клетки печени. У животных, получавших ЭТДЦ в дозах 100 мг/кг, и 500 мг/кг, наблюдалось снижение активности АЛТ на 35 и 45 %, АСТ – на 15 и 28 %, щелочной фосфатазы – на 15 и 21 %; содержание общего билирубина – на 20 и 29 % соответственно по сравнению с аналогичными показателями у группы животных, не получавших экстракт. Гистологическое исследование показало, что введение ЭТДЦ животным в дозах 100 и 500 мг/кг уменьшает дистрофические изменения гепатоцитов, этот эффект более выражен при дозе 500 мг/кг экстракта.

Заключение. Основными компонентами ЭТДЦ являются оксикумарины (эскулетин, цикориин) и гидроксикоричные кислоты (цикориевая, хлорогеновая и кафтаровая). По результатам скрининговых исследований установлено, что ЭТДЦ в дозах 100 мг/кг и 500 мг/кг является перспективным объектом для дальнейшего фармакологического исследования.

Ключевые слова: цикорий обыкновенный, экстракт, ВЭЖХ-МС/МС, гидроксикоричные кислоты, оксикумарины, фармакологический скрининг

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. О. Л. Сайбель, Т. Д. Даргаева спланировали и разработали эксперимент. А. И. Радимич интерпретировал результаты ВЭЖХ-МС/МС-исследования химического состава экстракта. И. А. Лупанова, Е. В. Ферубко спланировали фармакологическое исследование экстракта. Е. Н. Курманова, И. А. Мартынчик проводили эксперимент на модели токсического гепатита и обрабатывали его результаты. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании статьи.

Финансирование. Исследования выполнены в рамках реализации плана научно-исследовательской работы ФГБНУ ВИЛАР по теме № FNSZ-2019-0010 «Поиск активных фракций природных соединений, разработка способов их получения из растительного сырья, методик стандартизации и создание на их основе современных лекарственных форм» и № FNSZ-2019-0009 «Проведение доклинических исследований отдельных фракций, субстанций и лекарственных препаратов из лекарственного растительного сырья».

Для цитирования: Сайбель О. Л., Радимич А. И., Даргаева Т. Д., Лупанова И. А., Ферубко Е. В., Курманова Е. Н., Мартынчик И. А. Фенольные соединения и фармакологический скрининг экстракта травы цикория обыкновенного. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2021;10(4):36–45. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-36-45>

Phenolic Compounds and Hepatoprotective Activity of Chicory Herb Extract

Olga L. Saybel, Andrey I. Radimich, Tamara D. Dargaeva, Irina A. Lupanova, Ekaterina V. Ferubko, Elena N. Kurmanova, Irina A. Martynchik

All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, 7/1, Greena str., Moscow, 117216, Russia

*Corresponding author: Olga L. Saybel. E-mail: saybel@vilarnii.ru

ORCID: Olga L. Saybel – <https://orcid.org/0000-0001-8059-5064>; Andrey I. Radimich – <https://orcid.org/0000-0002-1139-8902>; Tamara D. Dargaeva – <https://orcid.org/0000-0002-0722-9479>; Irina A. Lupanova – <https://orcid.org/0000-0001-8183-2877>; Ekaterina V. Ferubko – <https://orcid.org/0000-0003-1949-2597>; Elena N. Kurmanova – <https://orcid.org/0000-0002-9243-5268>; Irina A. Martynchik – <https://orcid.org/0000-0001-7081-5545>.

Received: 07.09.2021

Revised: 17.11.2021

Published: 25.11.2021

Abstract

Introduction. Chicory (*Cichorium intybus* L.) is widely applied for liver disease treatment by traditional medicine of different countries; as well, it is the object for pharmacological research of hepatoprotective activity. In this regard, the method for obtaining dry extract of wild chicory herb (WCHE) is developed in the All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants.

Aim. Aim of the research is determination of the qualitative composition of phenolic compounds, identification of the substances prevailing in WCHE and conducting pharmacological screening of the extract.

Materials and methods. WCHE chemical composition has been explored with HPLC-MS/MS method; the main components were determined quantitatively with HPLC-UF method using single compounds that were isolated by us earlier and identified by NMR spectroscopy. WCHE pharmacological screening of hepatoprotective activity research was involving 50 male rats. Acute toxic hepatitis in animals was induced by a single subcutaneous injection of 50 % oily solution of tetrachloromethane (TCM) at a dosage of 0.4 ml per 100 g body weight. One hour before administration TCM, animals received WCHE at the doses of 100 or 500 mg/kg. 48 hours after TCM administration, the activity of serum enzymes alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), as well as the content of total bilirubin were determined for preliminary establishment of pharmacological activity. Pathomorphological studies of rat liver were carried out using histological methods. The liver histological structure was inspected using liver sections stained with hematoxylin and eosin.

Results and discussion. The component composition of WCHE is represented by oxycoumarins, hydroxycinnamic acids and flavonoids. The dominant phenolic compounds are esculetin, chicoriin, chicoric, chlorogenic and caftaric acids. It was found under acute experimental toxic hepatitis, that preliminary WCHE administration reduces the toxic TCM effect on liver cells. In animals treated with WCHE at doses both 100 mg/kg and 500 mg/kg body weight, it was observed decreases in ALT activity by 35 % and 45 %, AST by 15 % and 28 %, alkaline phosphatase by 15 % and 21 %; the content of total bilirubin by 20 % and 29 %, respectively, in comparison with similar indicators in the group of animals that were not treated with the extract. The histological study showed that WCHE administration to animals at the doses of 100 and 500 mg/kg reduces dystrophic changes in hepatocytes, this effect is more pronounced at the extract dosage of 500 mg/kg.

Conclusion. Main WCHE components are oxycoumarins (esculetin, chicoriin), hydroxycinnamic acids (chicoric, chlorogenic and caftaric). According to the results of screening studies, it was established that WCHE in doses of 100 mg/kg and 500 mg/kg is a promising object for further pharmacological research.

Keywords: chicory, extract, HPLC-MS/MS, hydroxycinnamic acids, oxycoumarins, pharmacological screening

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Olga L. Saybel, Tamara D. Dargaeva planned and developed an experiment. Andrey I. Radimich interpreted the results of HPLC-MS/MS studies of the chemical composition of the extract. Irina A. Lupanova, Ekaterina V. Ferubko planned a pharmacological study of the extract. Elena N. Kurmanova, Irina A. Martynchik conducted an experiment on a model of toxic hepatitis and processed its results. All authors participated in the discussion of the results and writing of the article.

Funding. The studies were carried out as part of the implementation of the research plan of the Federal State Budgetary Scientific Institution VILAR on the topic No. FNSZ-2019-0010 "Search for active fractions of natural compounds, development of methods for their production from plant raw materials, standardization methods and the creation of modern dosage forms on their basis" and No. FNSZ- 2019-0009 "Conducting preclinical studies of individual fractions, substances and medicinal products from medicinal plant materials."

For citation: Saybel O. L., Radimich A. I., Dargaeva T. D., Lupanova I. A., Ferubko E. V., Kurmanova E. N., Martynchik I. A. Phenolic compounds and hepatoprotective activity of chicory herb extract. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2021;10(4):36–45. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2021-10-4-36-45>

ВВЕДЕНИЕ

Вирусные гепатиты, метаболические нарушения (диабет, ожирение и др.), несбалансированное питание, неоправданный прием лекарственных средств, динамичный образ жизни современного человека в условиях неблагоприятной окружающей среды могут служить факторами развития хронических заболеваний печени. Данное понятие в клиническом контексте описывает патологические процессы, приводя-

щие, при отсутствии лечения, к прогрессирующему разрушению гепатоцитов. Среди различных форм хронических заболеваний печени наиболее распространенными являются вирусные гепатиты, алкогольная или неалкогольная жировая болезнь печени, аутоиммунный гепатит, цирроз и гепатоцеллюлярная карцинома [1–3].

Несмотря на то, что за последние несколько десятилетий был достигнут значительный прогресс в открытии методов и поиска средств лечения хрони-

ческих заболеваний печени, разработка новых лекарственных препаратов, способствующих нормализации работы печени, остается актуальной.

Особого внимания в решении этого вопроса заслуживает опыт народной и традиционной медицины разных стран, основанный преимущественно на применении средств растительного происхождения [4]. Вместе с тем опубликованные данные научной литературы, основанные на результатах изучения экстрактов и биологически активных веществ (БАВ) растений в опытах *in vitro* и *in vivo* подтверждают эффективность растительных средств при хронических заболеваниях печени [5–7], что указывает на целесообразность исследований, направленных на детальное изучение растений, и разработку на их основе гепатопротективных средств.

Одним из перспективных объектов отечественной флоры является многолетнее травянистое растение семейства Астровые (*Asteraceae*) цикорий обыкновенный (*Cichorium intybus* L.). Данный вид широко известен своим многоцелевым использованием. Культивируемые сорта «корневого» цикория выращиваются на плантациях в промышленных масштабах с целью производства «заменителя кофе», а также получения пребиотика инулина. Надземная часть обладает высокой пищевой ценностью, поэтому специально выведенные сорта цикория применяется для обогащения рациона домашних животных на пастбищах. Листовые сорта используется в пищу в виде салата [8].

Анализ данных литературы электронной медицинской библиотеки Pub Med, базы данных Google scholar показал, что цикорий обыкновенный рассматривается зарубежными учеными в качестве источника получения БАВ гепатопротективного действия [8–11].

Так, антиоксидантный механизм защиты печени экстракта листьев цикория был показан в исследовании на модели окислительного стресса печени, вызванного метотрексатом [12, 13]. Гепатопротективные свойства экстракта листьев также подтверждены на модели токсического гепатита в работах A. Jamshidzadeh et al. и A. L. Al-Malki et al. [14, 15]. В эксперименте на 40 крысах-самцах в составе комплексного средства экстракт цикория улучшил липидный профиль и снижал активность ферментов печени на фоне высокожировой диеты [16]. Аналогичные данные были получены при исследовании экстракта семян цикория [17].

A. N. Gilani et al. исследовали водно-метанольный экстракт семян цикория на гепатопротекторную активность в отношении вызванного ацетаминофеном и четыреххлористым углеродом поражения печени у мышей. Авторами было отмечено снижение смертности животных, а также снижение уровня сывороточных ферментов: щелочной фосфатазы (ЩФ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) [18]. На основании биохимических анализов и

гистологических исследований антигепатотоксическая активность установлена для экстракта корней и корневых каллусов [19]. С. Г. Крыловой с соавт. показано, что гепатопротекторная активность экстракта корней цикория превосходит препарат Карсил® [20].

Во всех вышеописанных исследованиях экстракты цикория были получены из культивируемых растений. Учитывая, что на территории Российской Федерации цикорий обыкновенный имеет довольно обширный ареал распространения в дикорастущем виде и значительные сырьевые ресурсы, нами в качестве объекта исследования выбрана надземная часть (трава) именно таких растений.

На основе травы дикорастущего цикория в ФГБНУ ВИЛАР разработан способ получения сухого экстракта (ЭТДЦ) и установлены его иммуномодулирующая, антиоксидантная и противовоспалительная активность [21].

Целью настоящей работы явилось изучение качественного состава фенольных соединений, выявление доминирующих веществ ЭТДЦ и проведение его фармакологического скрининга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сухой экстракт цикория обыкновенного получен из травы дикорастущего цикория обыкновенного, заготовленного в фазу цветения в Рыбновском районе Рязанской области в 2019 году. Способ получения экстракта включает стадию экстракции сырья 70%-м спиртом, концентрирования полученных извлечений, очистку от липофильных соединений и сушку. Содержание суммы фенольных соединений в пересчете на цикориевую кислоту в экстракте составляет $8,1 \pm 0,37$ %.

Метаболический профиль ЭТДЦ исследовали методом ВЭЖХ-УФ-МС/МС с использованием системы LCMC-8040 (Shimadzu, Япония), включающей ультраэффективный жидкостной хроматограф Nexera и тройной квадрупольный масс-спектрометр (ионизация – электроспрей (ESI), сканирование масс в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов в диапазоне 100–1000 m/z, напряжение на капилляре источника ионизации 5 кВ, температура нагревательного блока 400 °С, поток азота (газа осушителя) 20 л/мин), а также диодно-матричный детектор. Хроматографирование проводили на колонке Luna 5 µm C18 100 Å (250 × 4,6 мм). Температура термостабилизации колонки 30 °С. Скорость потока подвижной фазы 1 мл/мин. Объем инъекции испытуемого раствора составлял 10 мкл. Подвижная фаза: система растворителей 0,2%-й раствор муравьиной кислоты (А) и ацетонитрил (В) в градиентном режиме элюирования (0–20 мин – 10 % В, 20–30 мин – 10–25 % В, 30–40 мин – 40 % В, 40–44 мин – 60 % В, 44–48 мин – 80 % В, 48–60 мин – 10 % В). Идентификацию веществ проводили на основании характеристик УФ- и масс-спектров, их сопоставлением с данными литературы,

а также сравнением с ранее выделенными нами индивидуальными соединениями [22–25].

Количественное определение цикориевой, хлорогеновой, кафтаровой кислот, эскулетина и цикориина проводили методом ВЭЖХ-УФ на хроматографе Prominence-i LC-2030C 3D (Shimadzu, Япония) в описанных выше условиях. В качестве стандартных образцов (чистота не менее 98 %) были использованы индивидуальные вещества, выделенные нами ранее из надземной части цикория обыкновенного и идентифицированные методом ЯМР-спектроскопии.

Фармакологические исследования ЭТДЦ выполняли согласно Решению Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики ЕАЭС в сфере обращения лекарственных средств», национальному стандарту Российской Федерации ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», «Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [26]. Исследования одобрены биоэтической комиссией ФГБНУ ВИЛАР.

Скрининговые фармакологические исследования ЭТДЦ проводили на модели токсического гепатита, индуцированного тетрахлорметаном (ТХМ), на 50 нелинейных крысах-самцах с исходной массой тела 200–250 г. Животные содержались в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе. Перед началом эксперимента животные находились на карантине 14 дней. Опытные животные были разделены на пять групп по 10 особей: первая – интактные животные; вторая – контрольные животные, которым перед введением ТХМ пять дней вводили эквивалентное количество 1%-го крахмального клейстера в аналогичном с опытными группами режиме внутривенно через зонд. Третья и четвертая группы – опытные, которые до введения тетрахлорметана получали ЭТДЦ пять дней в дозах 100 и 500 мг/кг, суспендированный в 1%-ом крахмальном клейстере соответственно. Пятая группа животных получала препарат сравнения – Силимар®

(таблетки 100 мг, АО «Фармцентр ВИЛАР»), в дозе 100 мг/кг, также суспендированный в 1%-м крахмальном клейстере в течение пятидневного срока.

Острый токсический гепатит у животных вызывали однократным введением подкожно 50 % масляного раствора ТХМ (ООО «Компонент-Реактив», Россия) в дозе 0,4 мл на 100 г, через час после последнего введения исследуемых веществ. Через 48 часов после введения тетрахлорметана проводили взятие крови из хвостовой вены крыс. На биохимическом анализаторе CS-T240 (Dirui, Китай) определяли активность сывороточных ферментов: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочная фосфатазы (ЩФ), а также содержание общего билирубина для предварительного установления фармакологической активности. Патоморфологические исследования печени крыс проводили с использованием гистологических методик. Гистологическое строение печени оценивали при окраске срезов печени гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием лицензионного пакета программ статистического анализа Statistica 13 (StatSoft, США). Для оценки значимости различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента, для ненормального распределения – U-критерий Манна – Уитни. Вычисляли среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего (m). Различия между сравниваемыми значениями считали достоверными при уровне вероятности 95 % и более ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение хроматографического профиля ЭТДЦ методом ВЭЖХ-МС/МС показало, что основными его метаболитами являются оксикумарины, фенолокислоты – производные гидроксикоричной кислоты и флавоноиды. Среди доминирующих соединений идентифицированы эскулетин, цикориин, цикориевая, хлорогеновая и кафтаровая кислоты (рисунок 1).

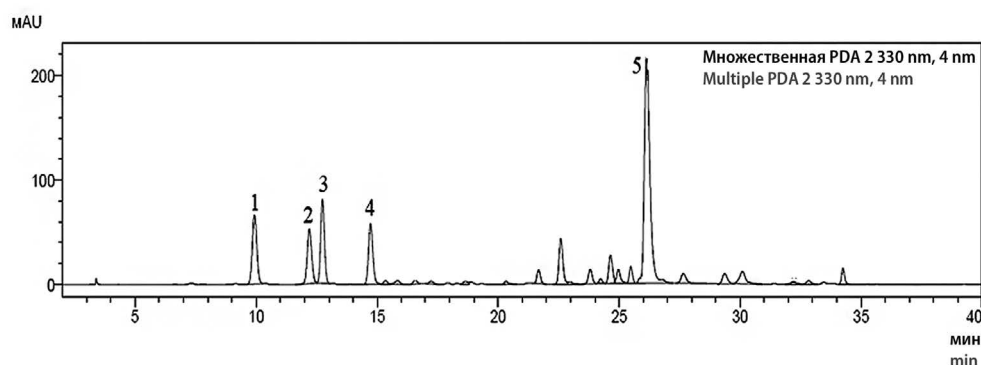


Рисунок 1. ВЭЖХ-УФ-хроматограмма (330 нм) ЭТДЦ:

1 – эскулетин; 2 – хлорогеновая кислота; 3 – кафтаровая кислота; 4 – цикориин; 5 – цикориевая кислота

Figure 1. HPLC-UV-chromatogram (330 nm) WCHE:

1 – esculetin; 2 – chlorogenic acid; 3 – caftaric acid; 4 – chicoriin; 5 – chicoric acid

Характеристика и содержание основных компонентов исследуемого экстракта представлено в таблице 1.

Для первичного отбора потенциальных гепатопротекторов ЭТДЦ использована модель токсического гепатита, индуцированная четыреххлористым углеродом. При попадании в организм ТХМ (CCl₄) под действием системы цитохрома P₄₅₀, расположенной в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов, превращает его в реакционноспособное промежуточное соединение, трихлорметильный радикал (CCl₃), который быстро реагирует с кислородом с образованием высокореактивного гепатотоксичного трихлорметилпероксирадикала, а затем пероксирадикал. Результатом такого воздействия является взаимодействие метаболитов ТХМ с полиненасыщенными жирными кислотами и развития цепной реакции, ведущей к перекисному окислению липидов или ковалентному связыванию с липидами и белками, что, в свою очередь, ведет к разрушению клеточных мембран гепатоцитов [27]. Нарушение целостности клеток печени приводит к высвобождению ферментов, таких как

АСТ, АЛТ, ЩФ, а также нарушению захвата билирубина, уровень которых соответственно в крови повышается. В связи с этим снижение концентрации данных ферментов и билирубина под действием лечебных средств служит свидетельством их гепатопротекторного действия [28].

Результаты изучения влияния ЭТДЦ на активность маркеров морфофункционального состояния гепатоцитов в сыворотке крови крыс представлены в таблице 2.

Профилактическое введение ЭТДЦ в дозах 100 мг/кг и 500 мг/кг дозозависимо снижало активность АЛТ на 35 и 45 % соответственно, АСТ – на 15 и 28 %, ЩФ – на 15 и 21 %, содержание общего билирубина – на 20 и 29 % в сыворотке крови крыс по сравнению с аналогичными показателями у животных с нелеченым экспериментальным гепатитом II группы. Биохимические показатели крови крыс IV группы, получавших ЭТДЦ в дозе 500 мг/кг, были ниже, чем у крыс V группы, которым вводили препарат сравнения Силимар®, 100 мг/кг.

Морфологическое строение образцов печени, полученной от крыс интактной группы I, соответствовало

Таблица 1. Основные биологически активные вещества ЭТДЦ

Table 1. The main biologically active substances of WCNE

Время удерживания, мин Retention time, min	Вещество Substance	λ_{\max} , нм λ_{\max}' , nm	Молекулярная масса, Да Molecular weight, Da	Положительная ионизация, m/z фрагменты Positive ionization, m/z fragments	Отрицательная ионизация, m/z фрагменты Negative ionization, m/z fragments	Содержание, % (M ± RSD, n = 3) Content, % (M ± RSD, n = 3)
10,24	Цикориин Chicoriin	289 340	340	179 (эскулетин) 179 (esculetin) 341 [M + H] ⁻ 363 [M + Na] ⁻ 681 [2M + H] ⁻ 703 [2M + Na] ⁻	177 (эскулетин) 177 (esculetin) 339 [M - H] ⁻ 679 [2M - H] ⁻	1,44 ± 0,05
13,15	Хлорогеновая кислота Chlorogenic acid	217 325	354	163 (кофейная кислота - H ₂ O) 181 (кофейная кислота) 163 (caffeic acid - H ₂ O) 181 (caffeic acid) 355 [M + H] ⁻ 377 [M + Na] ⁻ 731 [2M + Na] ⁻	191 (хинная кислота) 191 (quinic acid) 353 [M - H] ⁻ 707 [2M - H] ⁻	1,77 ± 0,06
13,50	Кафтаровая кислота Caftaric acid	329	312	313 [M + H] ⁻ 330 [M + H ₂ O] ⁻ 335 [M + Na] ⁻	149 (винная кислота) 179 (кофейная кислота) 149 (tartaric acid) 179 (caffeic acid) 311 [M - H] ⁻ 357 [M + HCOOH] ⁻	0,20±0,01
15,00	Эскулетин Esculetin	297 345	178	179 [M + H] ⁻ 201 [M + Na] ⁻ 379 [2M + Na] ⁻	177 [M - H] ⁻ 355 [2M - H] ⁻	0,44 ± 0,14
28,00	Цикориевая кислота Chicoric acid	329	474	163 (кофейная кислота - H ₂ O) 181 (кофейная кислота) 163 (caffeic acid - H ₂ O) 181 (caffeic acid) 475 [M + H] ⁻ 492 [M + H ₂ O] ⁻ 497 [M + Na] ⁻ 971 [2M + Na] ⁻	293 [M - кофейная кислота - H ₂ O] ⁻ 311 [M - кофейная кислота] ⁻ 293 [M - caffeic acid - H ₂ O] ⁻ 311 [M - caffeic acid] ⁻ 473 [M - H] ⁻ 947 [2M - H] ⁻	2,90 ± 0,09

Таблица 2. Сравнительные исследования биохимических показателей крови крыс, получавших ЭТДЦ и препарат сравнения Силимар® ($M \pm m$), $n = 10$

Table 2. Comparative studies of the biochemical parameters of the blood of rats treated with WCHE and the reference drug Silimar® ($M \pm m$), $n = 10$

Группы животных Animal groups	Биохимических показателей крови крыс							
	АЛТ, Е/л ALT, E/I	%	АСТ, Е/л AST, E/I	%	ЩФ, Е/л ALP, E/I	%	Билирубин общ., мкмоль/л Bilirubin total μmol/l	%
Интактные Intact	64,06 ± 5,45	–	89,58 ± 6,42	–	321,00 ± 6,80	–	1,30 ± 0,12	–
Контроль (модель тетрахлорметанового гепатита) Control (carbon tetrachloride hepatitis model)	202,60 ± 5,42	100	189,60 ± 3,91	100	569,00 ± 5,50	100	1,94 ± 0,04*	100
ЭТДЦ, доза 100 мг/кг + модель тетрахлорметанового гепатита ETDC, dose 100 mg/kg + model of carbon tetrachloride hepatitis	131,70 ± 1,63*	65	160,40 ± 4,10*	85	483,70 ± 4,90*	85	1,62 ± 0,10	80
ЭТДЦ, 500 мг/кг + модель тетрахлорметанового гепатита ETDC, 500 mg/kg + carbon tetrachloride hepatitis model	111,40 ± 4,00*	55	136,50 ± 2,67*	72	449,50 ± 4,51*	79	1,36 ± 0,06*	71
Силимар®, 100 мг/кг + модель тетрахлорметанового гепатита Silimar®, 100 mg/kg + carbon tetrachloride hepatitis model	135,80 ± 6,60*	67	161,20 ± 2,39*	85	489,40 ± 8,06*	86	1,62 ± 0,04*	83,5

Примечание. * Достоверность различий по сравнению с контролем (модель патологии) при $p < 0,05$.

Note. * Reliability of differences compared with control (pathology model) at $p < 0.05$.

ло гистологической норме. Введение тетрахлорметана вызывало дистрофические изменения по типу гиалиново-капельной дистрофии (рисунок 2).

Введение ЭТДЦ в дозах 100 и 500 мг/кг уменьшало дистрофические изменения гепатоцитов, при этом эффект был более выражен при введении максимальной дозы экстракта (рисунок 3).

В печени крыс V группы, получавших препарат сравнения Силимар® (100 мг/кг), выявлены аналогичные дистрофические изменения гепатоцитов, что и в группе III – ЭТДЦ в дозе 100 мг/кг (рисунок 4).

Оценивая морфологическую структуру печени крыс III и IV групп, установлено, что Силимар® в дозе 100 мг/кг проявляет гепатопротекторную активность.

На основании результатов патогистологических исследований показано, что экстракт цикория в дозах 100 и 500 мг/кг проявляет дозозависимую гепатопротективную активность, сравнимую с аналогичным действием известного гепатопротекторного препарата Силимар®.

Таким образом, экстракт травы цикория обыкновенного в дозах 100 и 500 мг/кг по результатам скри-

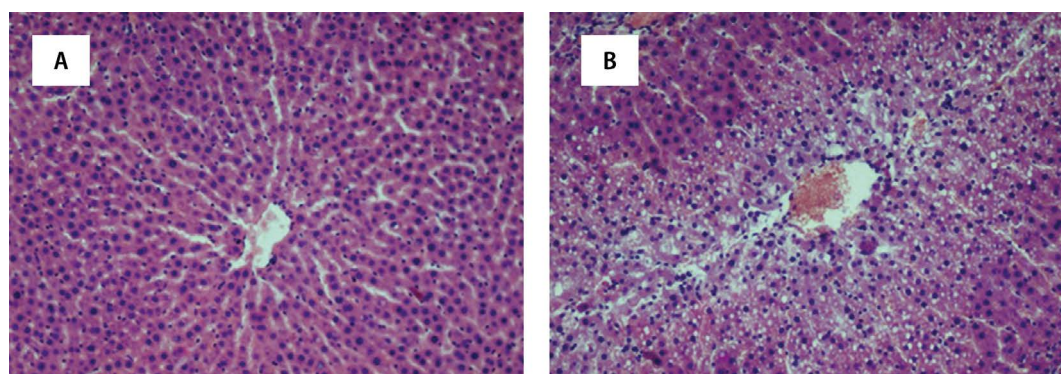


Рисунок 2. Морфологическое строение печени интактных крыс (А) и крыс с ТХМ гепатитом (В). Здесь и далее препараты окрашивали гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$

Figure 2. Morphological structure of the liver of intact rats (A) and rats with TCM-hepatitis model (B). Hereinafter, preparations were stained with hematoxylin and eosin, magnification $\times 100$

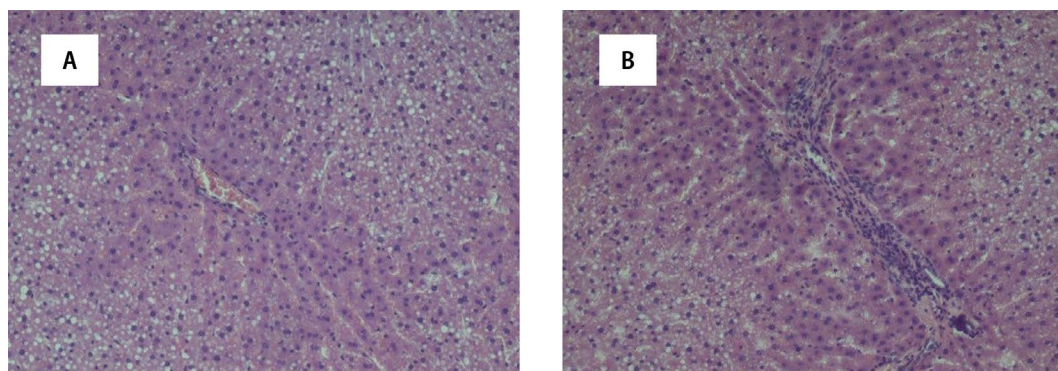


Рисунок 3. Морфологическое строение печени крыс, получавших ЭТДЦ в дозах 100 мг/кг (А) и 500 мг/кг (В), модель ТХМ гепатита
Figure 3. Morphological structure of the liver of rats treated with ETDC at doses of 100 mg/kg (A) and 500 mg/kg (B), TCM-hepatitis model

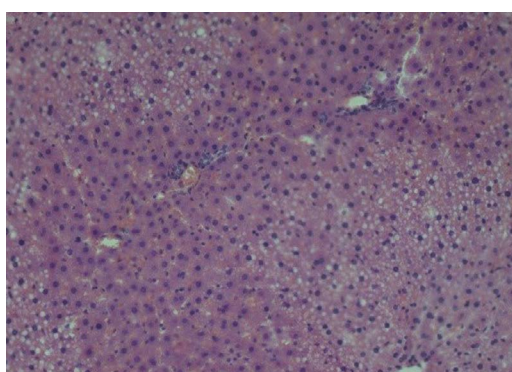


Рисунок 4. Морфологическое строение печени крыс, получавших Силимар® в дозе 100 мг/кг, модель ТХМ гепатита
Figure 4. Morphological structure of the liver of rats treated with Silimar® at a dose of 100 mg / kg, TCM-hepatitis model

нингового исследования в условиях модели острого тетрахлорметанового гепатита является перспективным объектом для дальнейшего фармакологического изучения, что согласуется с ранее полученными данными на модели острого токсического поражения печени крыс, вызванного однократным подкожным введением сулемы в дозе 3 мг/кг [29].

Безусловно, гепатопротективное действие ЭТДЦ обусловлено активностью комплекса БАВ исследуемого экстракта. Однако основополагающая роль в обеспечении данного действия принадлежит доминирующим его компонентам – оксикумаринам и гидроксикоричным кислотам. В литературе описаны результаты фармакологических исследований эскулетина и гидроксикоричных кислот, подтверждающих их гепатопротективную активность.

Так, в работе А.Н. Gilani et al. было показано, что предварительное введение эскулетина (6 мг/кг) снижало показатель смертности мышей до 40 % по сравнению со 100%-м контролем и предотвращала индуцированное парацетамолом (640 мг/кг) и ТХМ повышение сывороточных ферментов ЩФ, АСТ и АЛТ. Наряду с этим выявлено, что эскулетин пред-

отвращает вызванное гепатотоксической дозой ТХМ (1,5 мл/кг; перорально) удлинение времени фенобарбиталового сна, подтверждая тем самым гепатопротекторную активность [30].

Эскулетин, обладая ингибирующим действием на ксантиноксидазу, уровень которой повышается при гепатите и интоксикации печени, оказывает антигепатотоксическое действие. Аналогичным действием обладает и кофейная кислота, фрагменты которой являются частью структуры кислот (цикориевой, хлорогеновой и кафтаровой), входящих в состав ЭТДЦ [31]. Также эскулетин проявляет подавляющую активность в отношении окислительного повреждения ДНК [32].

W. L. Lin et al. в опытах *in vitro* подтвердили, что эскулетин в дозах 5–20 мкг/мл значительно снижал выход лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и АЛТ, а также уменьшал образование малонового диальдегида в первичных культивируемых гепатоцитах крыс, вызванное 30-минутной обработкой короткоцепочечного аналога гидропероксида липидов *трет*-бутилгидропероксида (t-BHP). Наряду с этим исследование *in vivo* на крысах показало, что предварительная обработка эскулетином (внутрибрюшинно) в концентрациях 0,5 и 5 мг/кг в течение 5 дней перед однократной внутрибрюшинной дозой t-BHP (0,1 ммоль/кг) значительно снижала уровни АЛТ и АСТ и окислительного стресса в печени. Гистопатологическая оценка свидетельствовала, что эскулетин снижает разрыв гепатоцитов, инфильтрацию лейкоцитов и некроз печени [33].

Антиокислительный эффект эскулетина в опытах *in vitro* подтвержден S. H. Kim et al. в отношении повреждения фибробластов, вызванного H₂O₂ [34], а также в исследовании M. J. Lee et al. на липопро-теидах низкой плотности [35].

Цикориин, являясь гликозидом эскулетина, под действием кислой среды желудка наиболее вероятно будет подвергаться гидролизу с образованием агликона и, соответственно, проявлять все описанные выше эффекты эскулетина.

Наряду с оксикумаринами, доминирующими компонентами ЭТДЦ, являются гидроксикоричные кислоты. Цикориевая кислота преобладает в ЭТДЦ по сравнению с другими метаболитами этой группы и, предположительно, вносит значительный вклад в гепатопротекторное действие экстракта. По мнению зарубежных авторов в основе механизма защитного действия данного соединения лежит антиоксидантная активность [36, 37]. В эксперименте на модели стеатоза печени, вызванного этанолом, также было показано, что цикориевая кислота при пероральном введении в дозе 4 мг/кг способна ослаблять острый алкогольный стеатоз у мышей, препятствуя индукции индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) и iNOS-зависимых сигнальных каскадов в печени [38].

Структура цикориевая кислота, как и других производных оксикоричной кислоты, содержит виниленовый мостик, соединяющий карбоксильную группу с ароматическим кольцом, что характеризует такие соединения более высокой антиоксидантной активностью, чем соответствующие производные бензойной кислоты. Проявлению значительной активности также способствует стабилизация феноксилов, образуемых оксикоричными кислотами, за счет делокализации неспаренного электрона на виниленовый фрагмент [39].

Поскольку используемая экспериментальная модель тетрахлорметанового гепатита имеет окислительный механизм разрушения гепатоцитов, то выявленный гепатопротекторный эффект экстракта, предположительно, обусловлен именно предотвращением окислительного стресса посредством антиоксидантной активности его метаболитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, доминирующими метаболитами экстракта травы цикория обыкновенного являются оксикумарины (эскулетин, цикориин), а также гидроксикоричные кислоты (цикориевая, хлорогеновая и каftarовая).

В результате проведенного фармакологического скрининга установлено, что экстракт травы цикория дикорастущего в дозах 100 и 500 мг/кг является перспективным объектом для дальнейшего изучения и создания на его основе гепатопротекторного средства растительного происхождения.

Опубликованные результаты исследований других ученых позволяют предположить, что реализация механизмов гепатопротекторного действия экстракта травы дикорастущего цикория обусловлена фенольными соединениями, обладающими выраженными антиоксидантными свойствами.

ЛИТЕРАТУРА

- Vong S., Bell B. P. Chronic liver disease mortality in the United States, 1990–1998. *Hepatology*. 2004;39(2):476–483. DOI: 10.1002/hep.20049.
- Gilani A. H., Janbaz K. H. Evaluation of the liver protective potential of *Cichorium intybus* seed extract on Acetaminophen and CCl₄-induced damage. *Phytomedicine*. 1994;1(3):193–197. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80064-4.
- Рейзис А. П., Борзакова С. Н., Аксенова В. А. Лекарственно-индуцированные поражения печени – актуальная проблема современной медицины. *Гастроэнтерология*. 2010;3:49–54.
- Akbarzadeh T., Sabourian R., Saeedi M., Rezaeizadeh H., Khanavi M., Ardekani, M. R. S. Liver tonics: review of plants used in Iranian traditional medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015;5(3):170–181.
- Khalili A., Fallah P., Hashemi S. A., Ahmadian-Attari M. M., Jamshidi V., Mazloom R., Beikzadeh L., Bayat G. New mechanistic insights into hepatoprotective activity of milk thistle and chicory quantified extract: The role of hepatic Farnesoid-X activated receptors. *Avicenna. Phytomedicine*. 2021;11(4):367–379. DOI: 10.22038/AJP.2020.17281.
- Skafa E., Makowczyńska J., Wiecefinska J., Kowalczyk T., Sitarek P. Caffeoylquinic Acids with Potential Biological Activity from Plant In vitro Cultures as Alternative Sources of Valuable Natural Products. *Current Pharmaceutical Design*. 2020;26(24):2817–2842. DOI: 10.2174/1381612826666200212115826.
- Hong M., Li S., Tan H. Y., Wang N., Tsao S. W., Feng, Y. Current status of herbal medicines in chronic liver disease therapy: the biological effects, molecular targets and future prospects. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(12):28705–28745. DOI: 10.3390/ijms161226126.
- Janda K., Gutowska I., Geszke-Moritz M., Jakubczyk K. The Common Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a Source of Extracts with Health-Promoting Properties—A Review. *Molecules*. 2021;26(6):1814. DOI: 10.3390/molecules26061814.
- Street R. A., Sidana J., Prinsloo G. *Cichorium intybus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:1–13. DOI: 10.1155/2013/579319.
- Moloudi M. R., Hassanzadeh K., Abdi M., Zandi F., Rahimi K., Izadpanah E. Hepatoprotective effect of the hydroalcoholic extract of *Cichorium intybus* in a rat model of obstructive cholestasis. *Arab Journal of Gastroenterology*. 2021;22(1):34–39. DOI: 10.1016/j.ajg.2020.08.006.
- Elgengaihi S., Mossa A.-T. H., Refaie A. A., Aboubaker D. Hepatoprotective efficacy of *Cichorium intybus* L. extract against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *Journal of Dietary Supplements*. 2016;13(5):570–584. DOI: 10.3109/19390211.2016.1144230.
- Hamdard J. Therapeutic potential of *Cichorium intybus* in lifestyle disorders: a review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2016;3:20–25.
- Asadi M., Mohammadian B., Shahriari A., Mohammadi M., Forouzandeh H. The Protective Effect of *Cichorium intybus* L. Hydroalcoholic Extract Against Methotrexate-Induced Oxidative Stress in Rats. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2018;13(4):e59556. DOI: 10.5812/jjnpp.59556.
- Jamshidzadeh A., Khoshnood M. J., Dehghani Z., Niknahad H. Hepatoprotective activity of *Cichorium intybus* L. leaves extract against carbon tetrachloride induced toxicity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2006;1:41–46. DOI: 10.22037/IJPR.2010.651.
- Al-Malki A. L., Abo-Golayel M. K. Hepatoprotective efficacy of chicory alone or combined with dandelion leaves against induced liver damage. *Life Science Journal*. 2013;10(4):140–157.
- Mohammadifar M., Taghizadeh M., Abed A., Soltani A., Tamtaji O., Khamechian T. Effect of *Ziziphus jujuba* Mill., *Cichorium intybus* L. and *Silybum marianum* (L.) Gaertn. combination extract on non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Journal of Medicinal Plants*. 2019;18(72):133–142. DOI: 10.29252/jmp.4.72.512.133.
- Ghaffari A., Rafrat M., Navekar R., Sepehri B., Asghari-Jafarabadi M., Ghavami S. M. Turmeric and chicory seed have beneficial effects on obesity markers and lipid profile in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2019;89(5–6):293–302. DOI: 10.1024/0300-9831/a000568.

18. Gilani A. H., Janbaz K. H. Evaluation of the liver protective potential of Cichorium intybus seed extract on Acetaminophen and CCl₄-induced damage. *Phytomedicine*. 1994;1(3):193–197. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80064-4.
19. Zafar R., Mujahid Ali S. Anti-hepatotoxic effects of root and root callus extracts of *Cichorium intybus* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 1998;63(3):227–231. DOI: 10.1016/S0378-8741(98)00087-7.
20. Крылова С. Г., Ефимова Л. А., Вымятина З. К., Зуева Е. П. Влияние экстракта корня цикория на морфофункциональное состояние печени у крыс с токсическим гепатитом. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2006;69(6):34–36.
21. Сайбель О. Л., Даргаева Т. Д., Радимич А. И., Дул В. Н., Николаев С. М., Хобракова В. Б., Мизина П. Г., Сидельников Н. И. Средство, обладающее иммуномодулирующей активностью и способ его получения. Патент РФ на изобретение № RU 2710270. 16.08.2019. Доступно по: https://patents.s3.yandex.net/RU2710270C1_20191225.pdf. Ссылка активна на 11.11.2021.
22. Carazzone C., Mascherpa D., Gazzani G., Papetti A. Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2013;138(2–3):1062–1071. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.060
23. Clifford M. N., Zheng W., Kuhnert N. Profiling the chlorogenic acids of aster by HPLC–MSn. *Phytochemical Analysis*. 2006;17(6):384–393. DOI: 10.1002/pca.935.
24. Jaiswal R., Sovdat T., Vivan F., Kuhnert N. Profiling and Characterization by LC-MS of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in maté (ilex paraguayensis). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(9):5471–5484. DOI: 10.1021/jf904537z.
25. Mascherpa D., Carazzone C., Marrubini G., Gazzani G., Papetti A. Identification of phenolic constituents in *Cichorium endivia* var. crispum and var. latifolium salads by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(49):12142–12150. DOI: 10.1021/jf3034754.
26. Миронов А. Н., ред. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
27. Recknagel R. O., Glende E. A., Dolak J. A., Waller R. L. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacology & Therapeutics*. 1989;43(1):139–154. DOI: 10.1016/0163-7258(89)90050-8.
28. Al-Malki A. L., Abo-Golayel M. K. Hepatoprotective efficacy of chicory alone or combined with dandelion leaves against induced liver damage. *Life Science Journal*. 2013;10(4):140–157.
29. Bortnikova V. V., Krepkova L. V., Babenko A. N., Saybel O. L., Borovkova M. V., Kuzina O. S., Mizina P. G., Job K. M., Sherwin C. M., Enioutina E. Y. A perspective botanical drug: Hepatoprotective activity of dry extract prepared from the aerial part of chicory plant (*Cichorium intybus* L.). *Clinical pharmacology in drug development*. 2021;10(51):100–101. DOI: 10.1002/cpdd.1004.
30. Gilani A. H., Janbaz K. H., Shah B. H. Esculetin prevents liver damage induced by paracetamol and CCL₄. *Pharmacological Research*. 1998;37(1):31–35. DOI: 10.1006/phrs.1997.0262.
31. Chang W. S., Chang Y. H., Lu F. J., Chiang H. C. Inhibitory effects of phenolics on xanthine oxidase. *Anticancer Research*. 1994;14(2A):501–506.
32. Tahara S., Baba N., Matsuo M., Kaneko T., Protective effect of epigallocatechin gallate and esculetin on oxidative dna damage induced by psoralen plus ultraviolet-a therapy, bioscience. *Biotechnology, and Biochemistry*. 2005;69(3):620–622. DOI: 10.1271/bbb.69.620.
33. Lin W. L., Wang C. J., Tsai Y. Y., Liu C. L., Hwang J. M., Tseng T. H. Inhibitory effect of esculetin on oxidative damage induced by t-butyl hydroperoxide in rat liver. *Archives of Toxicology*. 2000;74(8):467–472. DOI: 10.1007/s002040000148.
34. Kim S. H., Kang K. A., Zhang R., Piao M. J., Ko D. O., Wang Z. H., Chae S. W., Kang S. S., Lee K. H., Kang H. K., Kang H. W., Hyun J. W. Protective effect of esculetin against oxidative stress-induced cell damage via scavenging reactive oxygen species. *Acta Pharmaceutica Sinica*. 2008;29(11):1319–1326. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00878.x.
35. Lee M. J., Chou F. P., Tseng T. H., Hsieh M. H., Lin M. C., Wang C. J. Hibiscus protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion or nitric oxide donor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(7):2130–2136. DOI: 10.1021/jf011296a.
36. Kour K., Bani S. Chicoric acid regulates behavioral and biochemical alterations induced by chronic stress in experimental Swiss albino mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2011;99(3):342–348. DOI: 10.1016/j.pbb.2011.05.008.
37. Tsai K. L., Kao C. L., Hung C. H., Cheng Y. H., Lin H. C., Chu P. M. Chicoric acid is a potent anti-atherosclerotic ingredient by anti-oxidant action and anti-inflammation capacity. *Oncotarget*. 2017;8(18):29600–29612. DOI: 10.18632/oncotarget.16768.
38. Landmann M., Kanuri G., Spruss A., Stahl C., Bergheim I. Oral intake of chicoric acid reduces acute alcohol-induced hepatic steatosis in mice. *Nutrition*. 2014;30(7–8):882–889. DOI: 10.1016/j.nut.2013.11.015.
39. Машенцева А. А., Сейтеметбетов Т. С. Экспериментальное и теоретическое исследование взаимосвязи «структура-активность» производных коричной кислоты. *Журнал Сибирского федерального университета. Химия*. 2010;3(2):183–192.

REFERENCES

1. Vong S., Bell B. P. Chronic liver disease mortality in the United States, 1990–1998. *Hepatology*. 2004;39(2):476–483. DOI: 10.1002/hep.20049.
2. Gilani A. H., Janbaz K. H. Evaluation of the liver protective potential of Cichorium intybus seed extract on Acetaminophen and CCl₄-induced damage. *Phytomedicine*. 1994;1(3):193–197. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80064-4.
3. Reizis A. R., Borzakova S. N., Aksenova V. A. Drug-induced liver damage – an urgent problem of modern medicine. *Gastroenterologiya*. 2010;3:49–54. (In Russ.)
4. Akbarzadeh T., Sabourian R., Saeedi M., Rezaeizadeh H., Khanaavi M., Ardekani, M. R. S. Liver tonics: review of plants used in Iranian traditional medicine. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015;5(3):170–181.
5. Khalili A., Fallah P., Hashemi S. A., Ahmadian-Attari M. M., Jamshidi V., Mazloom R., Beikzadeh L., Bayat G. New mechanistic insights into hepatoprotective activity of milk thistle and chicory quantified extract: The role of hepatic Farnesoid-X activated receptors. *Avicenna*. *Phytomedicine*. 2021;11(4):367–379. DOI: 10.22038/AJP.2020.17281.
6. Skała E., Makowczyńska J., Wiczczyńska J., Kowalczyk T., Sitarek P. Caffeoylquinic Acids with Potential Biological Activity from Plant In vitro Cultures as Alternative Sources of Valuable Natural Products. *Current Pharmaceutical Design*. 2020;26(24):2817–2842. DOI: 10.2174/1381612826666200212115826.
7. Hong M., Li S., Tan H. Y., Wang N., Tsao S. W., Feng, Y. Current status of herbal medicines in chronic liver disease therapy: the biological effects, molecular targets and future prospects. *International journal of molecular sciences*. 2015;16(12):28705–28745. DOI: 10.3390/ijms161226126.
8. Janda K., Gutowska I., Geszke-Moritz M., Jakubczyk K. The Common Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a Source of Extracts with Health-Promoting Properties—A Review. *Molecules*. 2021;26(6):1814. DOI: 10.3390/molecules26061814.
9. Street R. A., Sidana J., Prinsloo G. *Cichorium intybus*: traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013;2013:1–13. DOI: 10.1155/2013/579319.
10. Moloudi M. R., Hassanzadeh K., Abdi M., Zandi F., Rahimi K., Izadpanah E. Hepatoprotective effect of the hydroalcoholic extract of *Cichorium intybus* in a rat model of obstructive cholestasis. *Arab Journal of Gastroenterology*. 2021;22(1):34–39. DOI: 10.1016/j.ajg.2020.08.006.
11. Elgengaihi S., Mossa A.-T. H., Refaie A. A., Aboubaker D. Hepatoprotective efficacy of *Cichorium intybus* L. extract against carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. *Journal of Dietary Supplements*. 2016;13(5):570–584. DOI: 10.3109/19390211.2016.1144230.

12. Hamdard J. Therapeutic potential of *Cichorium intybus* in lifestyle disorders: a review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2016;3:20–25.
13. Asadi M., Mohammadian B., Shahriari A., Mohammadi M., Forouzan-deh H. The Protective Effect of *Cichorium intybus* L. Hydroalcoholic Extract Against Methotrexate-Induced Oxidative Stress in Rats. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*. 2018;13(4):e59556. DOI: 10.5812/jjnpp.59556.
14. Jamshidzadeh A., Khoshnood M. J., Dehghani Z., Niknahad H. Hepatoprotective activity of *Cichorium intybus* L. leaves extract against carbon tetrachloride induced toxicity. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2006;1:41–46. DOI: 10.22037/IJPR.2010.651.
15. Al-Malki A. L., Abo-Golayel M. K. Hepatoprotective efficacy of chicory alone or combined with dandelion leaves against induced liver damage. *Life Science Journal*. 2013;10(4):140–157.
16. Mohammadifar M., Taghizadeh M., Abed A., Soltani A., Tamtaji O., Khamechian T. Effect of *Ziziphus jujuba* Mill., *Cichorium intybus* L. and *Silybum marianum* (L.) Gaertn. combination extract on non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Journal of Medicinal Plants*. 2019;18(72):133–142. DOI: 10.29252/jmp.4.72.S12.133.
17. Ghaffari A., Rafraf M., Navekar R., Sepehri B., Asghari-Jafarabadi M., Ghavami S. M. Turmeric and chicory seed have beneficial effects on obesity markers and lipid profile in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. 2019;89(5–6):293–302. DOI: 10.1024/0300-9831/a000568.
18. Gilani A. H., Janbaz K. H. Evaluation of the liver protective potential of *Cichorium intybus* seed extract on Acetaminophen and CCl₄-induced damage. *Phytomedicine*. 1994;1(3):193–197. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80064-4.
19. Zafar R., Mujahid Ali S. Anti-hepatotoxic effects of root and root callus extracts of *Cichorium intybus* L. *Journal of Ethnopharmacology*. 1998;63(3):227–231. DOI: 10.1016/S0378-8741(98)00087-7.
20. Krylova S. G., Efimova L. A., Vymyatnina Z. K., Zueva E. P. The effect of cichorium root extract on the morphofunctional state of liver in rats with carbon tetrachloride induced hepatitis model. *Éksperimental'naya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2006;69(6):34–36. (In Russ.)
21. Saybel O. L., Dargaeva T. D., Radimich A. I., Dul V. N., Nikolaev S. M., Khobrakova V. B., Mizina P. G., Sidelnikov N. I. *Sredstvo, obladayushchee immunomoduliruyushchey aktivnost'yu i sposob ego polucheniya* [An agent with immunomodulatory activity and a method for its production]. Patent RUS № 2710270. 16.08.2019. Available at: https://patents.s3.yandex.net/RU2710270C1_20191225.pdf. Accessed: 11.11.2021. (In Russ.)
22. Carazzone C., Mascherpa D., Gazzani G., Papetti A. Identification of phenolic constituents in red chicory salads (*Cichorium intybus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2013;138(2–3):1062–1071. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.11.060
23. Clifford M. N., Zheng W., Kuhnert N. Profiling the chlorogenic acids of aster by HPLC–MSn. *Phytochemical Analysis*. 2006;17(6):384–393. DOI: 10.1002/pca.935.
24. Jaiswal R., Sovdat T., Vivan F., Kuhnert N. Profiling and Characterization by LC-MS of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in maté (*Ilex paraguariensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010;58(9):5471–5484. DOI: 10.1021/jf904537z.
25. Mascherpa D., Carazzone C., Marrubini G., Gazzani G., Papetti A. Identification of phenolic constituents in *Cichorium endivia* var. crispum and var. latifolium salads by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012;60(49):12142–12150. DOI: 10.1021/jf3034754.
26. Mironov A. N., editor. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs]. Moscow: Grif and K; 2012. 944 p. (In Russ.)
27. Recknagel R. O., Glende E. A., Dolak J. A., Waller R. L. Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacology & Therapeutics*. 1989;43(1):139–154. DOI: 10.1016/0163-7258(89)90050-8.
28. Al-Malki A. L., Abo-Golayel M. K. Hepatoprotective efficacy of chicory alone or combined with dandelion leaves against induced liver damage. *Life Science Journal*. 2013;10(4):140–157.
29. Bortnikova V. V., Krepkova L. V., Babenko A. N., Saybel O. L., Borovkova M. V., Kuzina O. S., Mizina P. G., Job K. M., Sherwin C. M., Enioutina E. Y. A perspective botanical drug: Hepatoprotective activity of dry extract prepared from the aerial part of chicory plant (*Cichorium intybus* L.). *Clinical pharmacology in drug development*. 2021;10(S1):100–101. DOI: 10.1002/cpdd.1004.
30. Gilani A. H., Janbaz K. H., Shah B. H. Esculetin prevents liver damage induced by paracetamol and CCL4. *Pharmacological Research*. 1998;37(1):31–35. DOI: 10.1006/phrs.1997.0262.
31. Chang W. S., Chang Y. H., Lu F. J., Chiang H. C. Inhibitory effects of phenolics on xanthine oxidase. *Anticancer Research*. 1994;14(2A):501–506.
32. Tahara S., Baba N., Matsuo M., Kaneko T., Protective effect of epigallocatechin gallate and esculetin on oxidative dna damage induced by psoralen plus ultraviolet-a therapy, bioscience. *Biotechnology, and Biochemistry*. 2005;69(3):620–622. DOI: 10.1271/bbb.69.620.
33. Lin W. L., Wang C. J., Tsai Y. Y., Liu C. L., Hwang J. M., Tseng T. H. Inhibitory effect of esculetin on oxidative damage induced by t-butyl hydroperoxide in rat liver. *Archives of Toxicology*. 2000;74(8):467–472. DOI: 10.1007/s002040000148.
34. Kim S. H., Kang K. A., Zhang R., Piao M. J., Ko D. O., Wang Z. H., Chae S. W., Kang S. S., Lee K. H., Kang H. K., Kang H. W., Hyun J. W. Protective effect of esculetin against oxidative stress-induced cell damage via scavenging reactive oxygen species. *Acta Pharmaceutica Sinica*. 2008;29(11):1319–1326. DOI: 10.1111/j.1745-7254.2008.00878.x.
35. Lee M. J., Chou F. P., Tseng T. H., Hsieh M. H., Lin M. C., Wang C. J. Hibiscus protocatechuic acid or esculetin can inhibit oxidative LDL induced by either copper ion or nitric oxide donor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(7):2130–2136. DOI: 10.1021/jf011296a.
36. Kour K., Bani S. Chicoric acid regulates behavioral and biochemical alterations induced by chronic stress in experimental Swiss albino mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2011;99(3):342–348. DOI: 10.1016/j.pbb.2011.05.008.
37. Tsai K. L., Kao C. L., Hung C. H., Cheng Y. H., Lin H. C., Chu P. M. Chicoric acid is a potent anti-atherosclerotic ingredient by antioxidant action and anti-inflammation capacity. *Oncotarget*. 2017;8(18):29600–29612. DOI: 10.18632/oncotarget.16768.
38. Landmann M., Kanuri G., Spruss A., Stahl C., Bergheim I. Oral intake of chicoric acid reduces acute alcohol-induced hepatic steatosis in mice. *Nutrition*. 2014;30(7–8):882–889. DOI: 10.1016/j.nut.2013.11.015.
39. Mashentseva A. A., Seitembetov T. S. The Study of the "Structure-Activity" Relationship For a Cinnamic Acid Derivatives. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Khimiya = Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2010;3(2):183–192. (In Russ.)