

КОНСОРТИВНЫЕ СВЯЗИ ГИБРИДНЫХ ПИОНОВ С ГЕМОСТАЗОМ ПОЗВОНОЧНЫХ

Научная статья

Успенская М.С.¹, Ляпина Л.А.², Мурашев В.В.^{3,*}, Сороколетов С.М.⁴

^{1, 2, 3} Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

⁴ Московский многопрофильный научно-клинический центр имени С. П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (vla3053[at]mail.ru)

Аннотация

В составе экстрактов из корней гибридных пионов присутствуют различные соединения, представляющие интерес как источник новых активных фармацевтических субстанций, обладающих антикоагулянтным и антитромботическим действием. Нашей целью было определение потенциальной антикоагулянтной и антитромботической активности *in vitro* водных экстрактов из корней травянистых пионов сорта «Нежность» и гибрида «Хамелеон» из коллекции Научно-образовательного центра растительных биоресурсных коллекций и современного растениеводства — Ботанический сад имени Петра I Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова. Для этого проведено изучение антикоагулянтной активности водных экстрактов из корней сорта «Нежность» и гибрида Хамелеон в условиях *in vitro*. Оценено влияния тестируемых объектов на активность факторов свертывания внутреннего, внешнего и общего механизмов свертывания и на изменение концентрации фибриногена и степени полимеризации фибринина. Было доказано, что водные экстракты из корней пионов сорта «Нежность» и гибрида «Хамелеон» демонстрируют выраженную антикоагулянтную активность. Экстракты в разной степени влияют на все изученные коагулологические параметры, проявляя антитромботическую и антитромбиновую активность *in vitro*, оказывая статистически значимое влияние на различные параметры свертывания крови. Сорт «Нежность» имеет небольшое преимущество перед гибридом «Хамелеон» по снижению степени полимеризации фибринина. Полученные данные позволяют рекомендовать экстракты из этих гибридов для дальнейшего изучения с целью разработки функциональных лекарственных средств при сердечно-сосудистых заболеваниях, а также для создания антитромботических лекарственных средств.

Ключевые слова: экстракты из корней пионов, сорт Нежность, межвидовой гибрид Хамелеон, антикоагулянтная активность, гепаринOID, антитромботики.

CONSORT RELATIONSHIPS OF HYBRID PEONIES WITH VERTEBRATE HEMOSTASIS

Research article

Uspenskaya M.S.¹, Lyapina L.A.², Murashev V.V.^{3,*}, Sorokolетов С.М.⁴

^{1, 2, 3} Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

⁴ Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S. P. Botkin of the Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (vla3053[at]mail.ru)

Abstract

Extracts from the roots of hybrid peonies contain various compounds of interest as a source of new active pharmaceutical substances with anticoagulant and antithrombotic effects. Our goal was to determine the potential anticoagulant and antithrombotic activity *in vitro* of aqueous extracts from the roots of herbaceous peonies of the "Neznost" and interspecific hybrid "Chameleon" varieties from the collection of the Peter 1 Research Center of Moscow State University. For this purpose, the anticoagulant activity of aqueous extracts from the roots of the "Neznost" and hybrid "Chameleon" was studied *in vitro*. The influence of the tested objects on the activity of coagulation factors of internal, external and general coagulation mechanisms and on changes in fibrinogen concentration and the degree of fibrin polymerization was evaluated. It has been proven that water extracts from the roots of peonies "Neznost" and hybrid "Chameleon" demonstrate pronounced anticoagulant activity. The extracts affect all the coagulological parameters studied to varying degrees, exhibiting antithrombotic and antithrombin activity *in vitro*, having a statistically significant effect on various parameters of blood clotting. The "Neznost" variety has a slight advantage over hybrid "Chameleon" in reducing the degree of fibrin polymerization. The data obtained allow us to recommend extracts from these hybrids for further study in order to develop functional medicines for cardiovascular diseases, as well as for the creation of antithrombotic drugs.

Keywords: extracts from the roots of peonies, the Neznost variety, the hybrid Chameleon, anticoagulant activity, heparinoid, antithrombotics.

Введение

Согласно ботанической систематике пионы выделены в отдельное семейство Пионовые (*Paeoniaceae* Raf., 1815), включающее всего один род — пион (*Paeonia* L., 1753). Классификация внутри рода неоднократно пересматривалась и до сих пор окончательно не установилась.

Как известно, все виды пиона принадлежат к высокодекоративным растениям, многие используются в народной медицине или служат источниками сырья для изготовления промышленных лекарственных средств.

Взаимоотношения между растительными и животными компонентами мало изучены и представляют большой интерес как с точки зрения дальнейшего рационального природопользования, охраны природы, так и с медицинской позиции, направленной на сохранение здоровья человека и животных. Одним из перспективных и важных направлений является изучение пионовых консорций, представляющих весьма сложное и многообразное природное явление. Существует необходимость в более четкой интерпретации этого понятия и в классификации консорций с целью их детального изучения. Как известно, нормальное функционирование системы гемостаза зависит от регуляторных взаимодействий свёртывающей и противосвёртывающей систем крови, входящих в общую систему гемостаза млекопитающих. Нарушения в работе этой системы приводят к различным заболеваниям, в том числе и к угрожающим жизни состояниям — тромбозам или неконтролируемым кровотечениям [2]. Свертывание крови — важный биохимический процесс, направленный на образование и последующий лизис фибриновых сгустков [1].

К настоящему времени разработаны различные лекарственные средства, препятствующие образованию тромбов или же способствующие их растворению. Это тромболитические (фибринолитические) средства (альтеплаза, тенектеплаза, урокиназа, и другие) и различные антикоагулянты (гликозаминонгликаны, флавоноиды и др.) и их аналоги. Но при применении высокомолекулярных гепаринов, полученных из слизистой кишечника свиньи или легких крупного рогатого скота, у пациентов развивается ряд серьёзных побочных действий, связанных с высоким уровнем антикоагулянта в крови, что может вызвать кровоточивость или «рикошетный эффект». Применение этих препаратов сопряжено с рядом негативных побочных эффектов, включая развитие иммуногенности, системного фибринолиза [8]. Поиск альтернативных препаратов, в том числе среди экстрактов растительного происхождения, обладающих антикоагулянтным, антитромботическим действием, не теряет своей актуальности до настоящего времени. Поэтому перспективным является изучение антикоагулянтных компонентов низкомолекулярной природы из корней пионов. Ранее были проведены работы по выявлению у древовидных пионов гепариноидов, обладающих антикоагулянтной и фибринолитической активностью [10], [9]. На основе этих гепариноидов возможно создание лекарственных препаратов.

Согласно опубликованным данным экстракты из корней пионов содержат антикоагулянты гепариновой природы, проявляющие достаточную активность в кровотоке [4], [10], способные предотвращать образование фибрина с последующим переходом его в тромб. Отсюда можно предположить, что пионы могут иметь применение, например, в качестве активных фармацевтических субстанций для создания лекарственных средств при лечении тромбоза или для разработки функциональных средств профилактики при сердечно-сосудистых заболеваниях.

В китайской медицине хорошо известна биологическая активность высушенных, обваренных и очищенных корней пионов, используемых в народной медицине при заболеваниях ЦНС, постгеморрагической анемии, кровоизлиянии в сетчатку глаза, инфекционном гепатите, раке, диабете, нефrite, гипертонической болезни, потере аппетита, спастических колитах, гастралгии, задержке лактации. В тибетской медицине используют при туберкулезе легких, бронхите, пневмонии, простудных заболеваниях и многих других недугах. Анализ химического состава корней выявил наличие монотерпеноидов (peoniflorina, peoniflorigenina, альбифлорина, оксипеонифлорина, 6'-О-бензоилpeonифлорин), бензойной кислоты, стероида (β-ситостерин), дубильных веществ (пента-О-галлоил-β-D-глюкозу), углеводов и родственных им соединений (крахмал, пектин и др.), тритерпеноидов, хинонов, эфирных масел, следов кумаринов и алкалоидов, флавоноидов (peonidin, peonin, peonozid, астрагалин). В лепестках содержится пиретрин, а листья — флавоноид кемпферол [6].

Пион Млокосевича (*Paeonia mlokosewitschii* Lomakin) — вид травянистых многолетних цветковых растений рода *Paeonia* монотипного семейства пионовые (*Paeoniaceae*). Научное название этот вид получил в честь польского натуралиста Людвика Млокосевича. В 2003 г. данный вид был выдвинут в подвид пиона *Paeonia daurica* subsp. *mlokosewitschii* (Lomakin) [7]. В природе ареал эндемика охватывает Кавказ — Азербайджан, Грузию и Дагестан, где он произрастает по скалам и открытым склонам лесной зоны.

Сорт «Нежность», выведенный путем облучения семян Успенской Марианной Сергеевной в 2006 г. (патент 3249), представляет собой видовой Пион Млокосевича, очень раннего срока цветения. Куст высотой 75–80 см, компактный в период бутонизации и полурастущий в фазе полного цветения. Листья светло-зеленые. Цветоносы прочные, с одним цветком на цветоносе. Цветки простые, среднего диаметра — до 12 см, белые (рис. 1.1). Тычиночные нити белые, пыльники желтые, пестик зеленый, рыльце розовое. Аромат приятный, слабый. Плоды войлочно опушённые, дугообразно-отвороченные. Выполненные семена шаровидные, темно-синие, а стерильные семена ярко-малинового цвета, так что раскрытие коробочки выглядят весьма привлекательно, украшая куст в осенний период (рис. 1.2). По данным заявителя, сорт устойчив к болезням и вредителям.

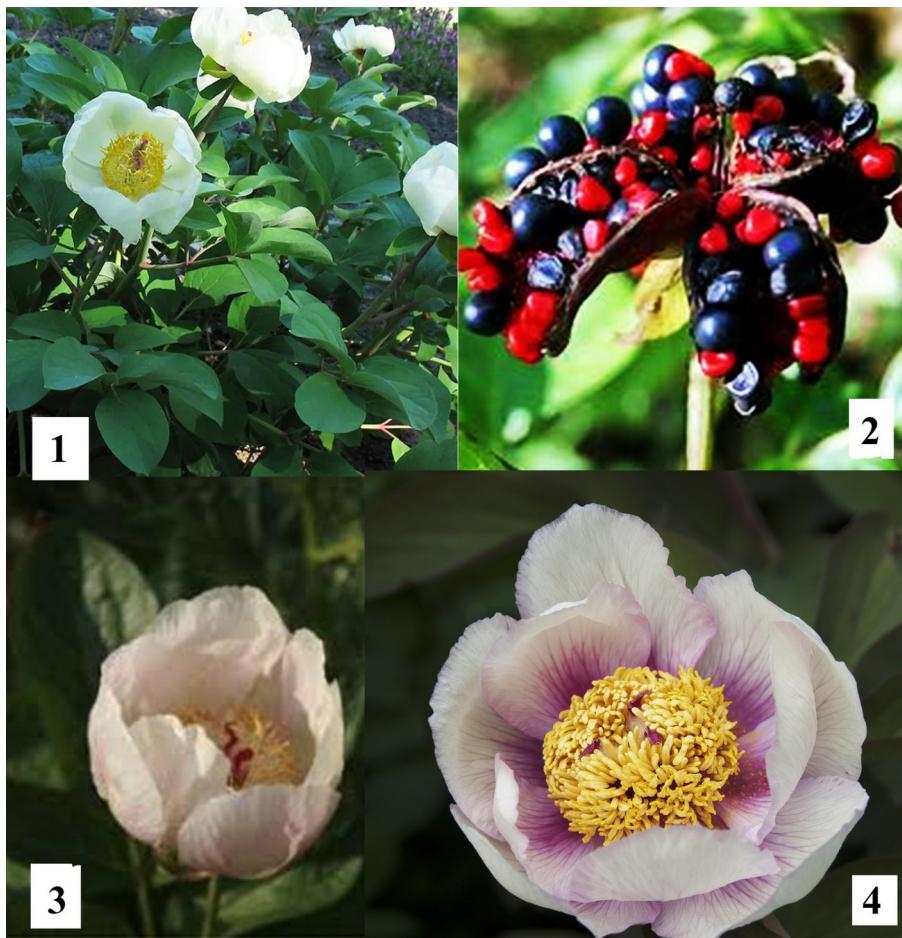


Рисунок 1 - Гибриды Пиона Млокосевича
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.159.66.1>

Примечание: 1.1 — цветущий куст сорта «Нежность»; 1.2 — раскрытая многокоробочка сорта «Нежность»; 1.3 — цветок Пиона Лагодехского; 1.4 — цветок Пиона «Хамелеон»

Гибридогенные процессы несомненно имели место в эволюции этого рода. *P. mlokosewitschii* Lomak. довольно легко скрещивается как на коллекционном участке, так и в естественных условиях, образуя гибридные формы. Например, *P. lagodechiana* Kem.-Nath. (*P. kavachensis* Asnav. x *P. mlokosewitschii* Lomak.) ареал которого обнаружен профессором Любовью Манучаровной Кемулярия-Натадзе на Кавказе (рис. 1.3).

Пион, названный *Paeonia × chameleon* Troitsky, 1930, ex Grossg., который стихийно вырос на коллекционном участке живой флоры Института ботаники АН Грузии, имел тех же родителей — *P. caucasica* и *P. mlokosewitschii*, — поэтому название *P. × lagodechiana* Kem.-Nath., 1961, согласно правилам «Международного кодекса ботанической номенклатуры», был признан синонимом *P. × chameleon* Troitzky [5]. Этот нотовид при распускании цветка может иметь бледно-розовые, кремовые или бледно-жёлтые лепестки. Независимо от цвета при распускании, все они при созревании цветка приобретали приятный вишнево-розовый оттенок, за что и получили своё видовое название — хамелеон.

В ботаническом саду МГУ тоже был получен гибрид между П. Млокосевича и П. кавказским, напоминающий П. хамелеон (рис. 1.4).

В 2005 году был зарегистрирован гибрид пиона тонколистного, созданный и представленный Роем Клеммом в США. Его диагноз не соответствует описанию оригинального растения и поэтому не имеет права называться Chameleon, поскольку этот вид уже достоверно описан и использовался в ботанике на 75 лет ранее.

Целью настоящей работы является определение потенциальной антикоагулянтной и антитромботической активности *in vitro* водных экстрактов корней травянистых пионов сорта «Нежность» и гибрида «Хамелеон». Для сравнения использовали низкомолекулярный гепарин (НМГ) фирмы Celsus (США).

Для оценки фармакологической активности объектов *in vitro* были выбраны следующие коагулологические показатели [3]: антикоагулянтная активность плазмы крови (по тестам активированного частичного тромболастинового времени-АЧТВ, тромбинового времени-ТВ, протромбинового времени-ПВ); степень полимеризации фибрина; концентрация фибриногена.

Материалы и методы исследования

Объекты исследования представляют собой водные экстракты, полученные из корней пионов 1) сорта «Нежность», 2) гибрида «Хамелеон», 3) коммерческий НМГ животного происхождения. Корни пионов были собраны в Ботаническом саду МГУ в период с августа по сентябрь 2024 года и весной (март) 2025 года.

2.1. Методика получения водных экстрактов пионов

Для получения экстрактов корни пионов были промыты несколько раз дистиллированной водой, а затем высушены в течение 24 часов при 40°C до остаточной влажности 10–15% и измельчены до размера частиц не более 2,0 мм. Затем образцы порошкообразных корней последовательно экстрагировались этиловым спиртом (5%, Россия), а затем бидистиллированной водой для получения водных экстрактов. Водные экстракты центрифугировали при 2–3 тыс. об/мин в течение 20–30 мин, супернатант отделяли и замораживали при температуре не выше минус 18°C и лиофильно высушивали. Лиофилизаты водных экстрактов корней представляли собой порошкообразную массу жёлтого цвета различной интенсивности. Далее объекты исследования хранили при температуре 2–8°C.

2.2. Методики оценки коагулологических параметров *in vitro*

Для оценки влияния объектов на параметры гемостаза *in vitro* была использована коммерчески доступная референтная нормальная пулированная плазма крови крысы с параметрами гемостаза в пределах нормы.

Приготовление сток-растворов и модельных смесей тестируемых объектов

Навеску тестируемых объектов, взвешенную с точностью до 0,001 г, растворяли в дистиллированной воде из расчета 100 мкг вещества на 1 мл раствора, в результате получали сток-растворы с концентрацией тестируемого объекта 1 мг/10 мл. Далее с помощью серии последовательных разведений в дистиллированной воде готовили сток-растворы с концентрациями от 0,001 мг/мл до 0,1 мг/мл. Для проведения исследования в качестве испытуемых растворов использовали сток-растворы с концентрациями тестируемых объектов № 4 — 0,001, № 3 — 0,01, № 2 — 0,1 и № 1 — 1 мг/мл. К 0,2 мл плазмы добавляли по 0,05 мл исследуемых экстрактов, инкубировали при 37°C в течение 10–16 минут, после чего проводили определения согласно методикам.

Модельные смеси объектов с плазмой крови использовали для дальнейшего анализа с целью определения параметров гемостаза (тромбиновое время — ТВ, протромбиновое время — ПВ и активированное частичное тромбопластиновое время — АЧТВ с использованием наборов реагентов «Технология-стандарт», Россия). Эти временные интервалы изучались на полуавтоматическом медицинском анализаторе для анализа параметров гемостаза Астра — 2-01 (Россия).

Изучение влияния тестируемых объектов на концентрацию фибриногена проведено с помощью метода Bidwell, подробное описание которого имеется в методическом пособии [3]. Функциональный анализ определения концентрации фибриногена основан на формировании фибринового сгустка: измеряется концентрация фибриногена в плазме крови крыс после добавлении к ней избытка тромбина. Метод определения полимеризации фибрина (в %) на нестабилизированном фибрине (с непрочными водородными связями) основан на способности испытуемых веществ задерживать или усиливать образование фибрина с помощью теста определения фибринополимеризации на нестабилизированном фибрине, для чего готовили нестабилизированные фибриновые пленки [3]. На готовые пленки наносили плазму крови от контрольных и опытных крыс в количестве 0,05 мл в присутствии равного количества 0,3%-ой ЕАКК. Инкубировали при 37°C в течение 2-х часов, после чего измеряли зоны лизиса. Принимали в контроле 100% полимеризацию фибрина, зоны лизиса — А. В опыте зоны лизиса Б. Между зонами лизиса и % полимеризации фибрина существует обратная пропорциональная зависимость, которая рассчитывалась по формуле: % полимеризации в опытной пробе (Б) = (А: Б)х 100%.

2.3. Обработка данных

Статистический анализ данных осуществляли, используя пакет статистических программ Statistica 8 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения данных оценивали по критерию Шапиро-Уилка, попарное сравнение независимых групп — по непараметрическому критерию Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Свертывание крови и фибинолиз являются многоступенчатыми процессами. В ходе исследования *in vitro* оценивали влияние экстрактов на ряд параметров, характеризующих процессы гемостаза и полимеризации фибрина.

В работе использовались корни сорта «Нежность» и гибрида «Хамелеон». Получали антикоагулянты в количестве 0,5–0,6 мг, растворенные в 0,5 мл. Для сравнения применяли коммерческий препарат НМГ фирмы Celsus (США). Все полученные антикоагулянты растворяли в 0,85%-ом физиологическом растворе NaCl.

Как видно из таблицы 1, экстракты из пионов проявляли зависимость антикоагулянтного эффекта — по АЧТВ, ПВ от используемой концентрации в образце. По тесту АЧТВ гибрид «Хамелеон» проявлял более высокий эффект, нежели сорт «Нежность». По тесту полимеризации фибрина четкой концентрационной зависимости не выявлено, так как оба пиона проявляли практически одинаковое снижение степени полимеризации фибрина (на 24–20%). Все же пион «Нежность» по снижению степени полимеризации имел небольшое преимущество перед гибридом «Хамелеон».

Таблица 1 - Дозозависимость эффектов экстрактов из пионов «Нежность» и «Хамелеон» по тестам АЧТВ, ПВ и степени полимеризации фибрина

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.159.66.2>

Изучаемые показатели	Концентрации (мкг/мл)	Гибрид «Хамелеон» (сек)	Сорт «Нежность» (сек)
АЧТВ Контроль с 0,85%	10 ⁻¹	46,1 ± 1,1	40,4 ± 0,7

Изучаемые показатели	Концентрации (мкг/мл)	Гибрид «Хамелеон» (сек)	Сорт «Нежность» (сек)
NaCl - 33,0 сек (100%)	10^{-2}	45,0±0,9	40,0 ± 0,7
	10^{-3}	40,3±0,9	38,7 ± 0,7
	10^{-4}	35,3±0,7	34,3 ± 0,9
ПВ Контроль с 0,85% NaCl - 28,5 сек (100 %)	10^{-1}	31,7± 0,5	32,3 ± 0,7
	10^{-2}	29,9± 0,6	32,0± 0,7
	10^{-3}	29,5± 0,5	29,1± 0,5
	10^{-4}	28,9± 0,7	29,0± 9,5
Степень полимеризации фибринова: контроль с NaCl – 100%	10^{-1}	83,6± 1,1	76,1 ± 0,9
	10^{-2}	83,0 ± 1,1	80,0 ± 0,6
	10^{-3}	83,0 ± 1,1	80,0 ± 0,9

Примечание: $p < 0,05$ – достоверное отличие от контроля (100 %). $M \pm m$ – среднее значение ± стандартная ошибка среднего

В последующем изучали влияние экстрактов из пионов и для сравнения коммерческого препарата НМГ на временные интервалы свертывания, концентрацию фибриногена, фибринополимеризационную активность плазмы и полимеризацию фибринова (табл. 2).

Таблица 2 - Влияние экстрактов из пионов «Нежность» и гибрида «Хамелеон» в концентрации 10^{-1} мг/мл на активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПВ), фибринополимеризационную активность (ФДПА) и степень полимеризации фибринова

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2025.159.66.3>

Исследуемые корни пионов	АЧТВ, сек	ТВ, сек	ПВ, сек	Концентрация фибриногена (мг%)	ФДПА, (мм^2)	Полимеризация фибринова (%)
«Нежность»	40,4±1,3*	21,4±0,7*	32,3±1,0*	248,3±10,2*	22,3±0,8*	76,0±3,4*
гибрид Хамелеон	46,1±1,1*	20,3±1,0	31,7±1,0	286,0±17,0	19,0±2,1	83,6±4,9*
НМГ "Celsius"	38,2±1,0*	19,0±0,5	30,0±0,5	290,0±9,6	15,1±0,9	100±1,2
Контроль-0,85% NaCl	30,0±1,0	18,3±0,8	28,5±0,8	341,5±8,5	14,3±0,5	100±0,2

Примечание: $p < 0,05$ – достоверное отличие от контроля (100%). $M \pm m$ – среднее значение ± стандартная ошибка среднего

Как видно из таблицы 2, экстракты из корней пионов «Нежность» и «Хамелеон», а также коммерческий НМГ влияли на внутренний механизм свертывания крови, о чём свидетельствовало достоверное повышение АЧТВ по сравнению с контролем. Следует отметить, что сорт «Нежность» в отличие от НМГ коммерческого и гибрида «Хамелеон» повышал ПВ, что свидетельствовало о его влиянии на внешний путь свертывания, обнаруживал он также анти-факторную Па активность, повышая ТВ, и достоверно снижал концентрацию фибриногена.

Обсуждение

Оба описанных выше пиона, как нами выяснено, обладают антикоагулянтными свойствами и влияют на внутренний механизм свертывания крови. Сорт «Нежность», кроме того, влияет и на внешний механизм свертывания крови, блокируя факторы этого пути, например, тканевой фактор, который участвует в образовании повышенной свертываемости крови. Примечательно, что пион сорта «Нежность» снижает активность основного коагулянта крови — тромбина. Фибриноген, циркулирующий в кровотоке белок (молекулярная масса 340 кДА), является единственным субстратом для образования фибринового сгустка крови (тромба) [2]. Кроме кровоостанавливающей функции, фибриноген участвует в регенерации поврежденных участков кожи, слизистых оболочек и в фибринолизе с целью растворения тромбов при восстановлении поврежденных участков с целью нормализации кровоснабжения. Компоненты экстрактов из корней пионов *in vitro* оказывают незначительное влияние на время формирования фибринового сгустка и снижают концентрацию фибриногена в плазме крови на 20–24% в диапазоне концентраций 10 до 100 мкг/мл.

При сопоставлении полученных эффектов для различных ионов с коммерческим НМГ необходимо отметить, что выраженное влияние на антикоагулянтную активность по тесту АЧТВ *in vitro* оказывают полисахаридные компоненты, содержащиеся преимущественно в водной части корней пиона сорта «Нежность».

Заключение

В ходе проведения исследования *in vitro* была изучена антитромботическая активность водных экстрактов из корней сорта «Нежность» и гибрида «Хамелеон». Влияние водных экстрактов этих видов пионов на отдельные параметры гемостаза (активность антифакторной IIa, полимеризация фибринина, концентрацию фибриногена) ранее не было изучено. Фракции, выделенные из корней этих пионов, обладают выраженной антитромботической активностью и оказывают влияние в разной степени на все изучаемые параметры свертывания крови, проявляя антикоагулянтный и фибринолитический эффекты, а также снижая полимеризацию фибринина. Из двух видов пионов наибольший эффект установлен у сортового пиона «Нежность».

Экстракты, выделенные нами из корней сорта «Нежность» и гибрида «Хамелеон», не оказывают влияния на изученные параметры концентрации фибриногена. Полученные данные позволяют рекомендовать водные экстракты из корней данных пионов для дальнейшего изучения, в том числе *in vivo*, например, с целью создания антитромботического лекарственного средства или разработки функциональных пищевых продуктов при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Финансирование

Исследование выполнено в связи с заданием
Московского государственного университета имени М.В.
Ломоносова.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть представлена компетентным органам по запросу.

Funding

The study was carried out in connection with the assignment of the Lomonosov Moscow State University.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Берковский А.Л. Методы определения активности гепарина : учебно-методическое пособие / А.Л. Берковский, Е.В. Сергеева, А.В. Суворов [и др.]. — Москва : Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, 2015. — 64 с.
2. Ляпина Л.А. Теоретические и практические вопросы изучения функционального состояния противосвертывающей системы крови / Л.А. Ляпина, М.Е. Григорьева, Т.Ю. Оберган [и др.]. — Москва : Адвансед Солюшнз, 2012. — 159 с.
3. Ляпина Л.А. Основы физиологии и биохимии свертывания крови : учебник для вузов / Л.А. Ляпина, М.Е. Григорьева, Т.Ю. Оберган [и др.]. — Москва : Издательство Московского университета, 2023. — 160 с.
4. Ляпина М.Г. О механизме антикоагулянтного действия экстракта из корней пиона молочноцветкового / М.Г. Ляпина, М.С. Успенская, Е.С. Майстренко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. — 2016. — № 11–6. — С. 1091–1093.
5. Пунина Е.О. Конспект кавказских видов рода *Paeonia* (*Paeoniaceae*) / Е.О. Пунина, Е.В. Мордак // Ботанический журнал. — 2009. — Т. 94. — № 11. — С. 1681–1696.
6. Шретер А.И. Природное сырье китайской медицины : справочник в 3-х томах. / А.И. Шретер, Б.Г. Валентинов, Э.М. Наумова. — Москва : Теревинф, 2004. — Т. 1. — 506 с.
7. Hong D.Y. *Paeonia* (*Paeoniaceae*) in the Caucasus / D.Y. Hong, S.-L. Zhou // Botanical Journal of the Linnean Society. — 2003. — Vol. 143. — № 2. — P. 135–150.
8. Wei L.-H. Natural constituents of St. John's Wort inhibit the proteolytic activity of human thrombin / L.-H. Wei, T.-R. Chen, H.-B. Fang [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. — 2019. — Vol. 134. — P. 622–630.
9. Wang R. The enzymatic hydrolysate of fucoidan from *Sargassum hemiphyllum* triggers immunity in plants / R. Wang, J. Bai, G. Yan [et al.] // Journal of Plant Physiology. — 2023. — Vol. 283. — 153967 p.
10. Zhang S.B. In vitro antithrombotic activities of peanut protein hydrolysates / S.B. Zhang // Food Chemistry. — 2016. — Vol. 202. — P. 1–8.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Berkovsky A.L. Metody opredeleniya aktivnosti heparina [Methods for determining heparin activity] : educational and methodical manual / A.L. Berkovsky, E.V. Sergeeva, A.V. Suvorov [et al.]. — Moscow : Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, 2015. — 64 p. [in Russian]
2. Lyapina L.A. Teoreticheskie i prakticheskie voprosy izucheniya funkcion'nogo sostoyaniya protivosvertvayushchey sistemy krovi [Theoretical and practical issues of studying the functional state of the blood anticoagulant system] / L.A. Lyapina, M.E. Grigorieva, T.Yu. Obergan [et al.]. — Moscow : Advanced Solutions, 2012. — 159 p. [in Russian]

3. Lyapina L.A. Osnovy fiziologii i biohimii svertyvaniya krovi [Fundamentals of physiology and biochemistry of blood coagulation] : textbook for universities / L.A. Lyapina, M.E. Grigorieva, T.Yu. Obergan [et al.]. — Moscow : Moscow University Publishing House, 2023. — 160 p. [in Russian]
4. Lyapina M.G. O mekhanizme antikoagulyantnogo dejstviya e`kstrakta iz kornej piona molochnycvetkovogo [On the mechanism of the anticoagulant effect of the extract from the roots of *Paeonia lactiflora*] / M.G. Lyapina, M.S. Uspenskaya, E.S. Maistrenko // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij [International Journal of Applied and Fundamental Research]. — 2016. — № 11–6. — P. 1091–1093. [in Russian]
5. Punina E.O. Konspekt kavkazskikh vidov roda *Paeonia* (*Paeoniaceae*) [Synopsis of Caucasian species of the genus *Paeonia* (*Paeoniaceae*)] / E.O. Punina, E.V. Mordak // Botanicheskij zhurnal [Botanical Journal]. — 2009. — Vol. 94. — № 11. — P. 1681–1696. [in Russian]
6. Shreter A.I. Prirodnoe syr'e kitajskoj mediciny [Natural raw materials of Chinese medicine] : reference book in 3 volumes / A.I. Shreter, B.G. Valentinov, E.M. Naumova. — Moscow : Terevinf, 2004. — Vol. 1. — 506 p. [in Russian]
7. Hong D.Y. *Paeonia* (*Paeoniaceae*) in the Caucasus / D.Y. Hong, S.-L. Zhou // Botanical Journal of the Linnean Society. — 2003. — Vol. 143. — № 2. — P. 135–150.
8. Wei L.-H. Natural constituents of St. John's Wort inhibit the proteolytic activity of human thrombin / L.-H. Wei, T.-R. Chen, H.-B. Fang [et al.] // International Journal of Biological Macromolecules. — 2019. — Vol. 134. — P. 622–630.
9. Wang R. The enzymatic hydrolysate of fucoidan from *Sargassum hemiphyllum* triggers immunity in plants / R. Wang, J. Bai, G. Yan [et al.] // Journal of Plant Physiology. — 2023. — Vol. 283. — 153967 p.
10. Zhang S.B. In vitro antithrombotic activities of peanut protein hydrolysates / S.B. Zhang // Food Chemistry. — 2016. — Vol. 202. — P. 1–8.