

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК ТАДЖИКИСТАНА
ЦЕНТР ИННОВАЦИОННОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ**

УДК 577.1

ББК 28.072

У-17

На правах рукописи

УБАЙДУЛЛО МУХАММАДХОФИЗИ ОДИНА

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ
ЭКСТРАКТА ЛАГЕНАРИИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*LAGENARIA
SICERARIA* (MOLINA) STANDL.) ПРИ ГЕПАТИТАХ**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.04 – биохимия

Научный руководитель:

кандидат химических наук,

Курбанов М.К.

Научный консультант:

доктор биологических наук,

профессор, академик НАНТ

Якубова М.М.

ДУШАНБЕ – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И (ИЛИ) УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИССЛЕДОВАНИЯ.....	8
ГЛАВА 1 АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБРАННОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	13
1.1. Обзор встречаемости различных заболеваний печени.....	13
1.2. Ботанико-фармакогностический и химико-фармакологический скрининг лагенария обыкновенной.....	22
1.3. Лечебные свойства лагенарии обыкновенной, применение её в народной и традиционной медицине.....	26
1.4. Некоторые аспекты гепатопротекторного действия лагенарии обыкновенной.....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Материалы исследования	44
2.2. Выход суммы экстрактивных веществ лагенарии обыкновенной	45
2.3. Методы качественного анализа биологически активных веществ.....	47
2.4. Методика количественного определения суммы флавоноидов в мякоти плодов лагенарии обыкновенной.....	52
2.5.Определение острой токсичности экстракта лагенарии обыкновенной.....	54
2.6. Методика изучения противовирусного действия настойки лагенарии обыкновенной при экспериментальном вирусном гепатите В.....	55
2.7. Методика оценки гепатопротекторного действия экстракт лагенарии обыкновенной при экспериментальном токсическом гепатите	55
2.8. Биохимические методы исследования, использованные в работе.....	56
ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	62
3.1. Определение содержания экстрактивных веществ в растительном сырье лагенария обыкновенного.....	62
3.2. Экологическая чистота растительного сырья лагенария обыкновенная..	66

3.3. Количественное определение суммы флавоноидов в мякоти плодов лагенарии обыкновенной.....	68
3.4. ИК - спектроскопия в исследовании экстрактов лагенарии обыкновенной.....	70
3.5. Определение острой токсичности настойки мякоти лагенарии обыкновенной.....	75
3.6. Влияние настойки лагенарии обыкновенной на белых мышей, зараженных HBV.....	77
3.7. Влияние экстракта лагенарии обыкновенной при остром токсическом поражении печени CCl ₄	82
Глава 4. Обсуждение результатов.....	105
Выводы.....	119
Рекомендации по практическому использованию результатов.....	120
Список использованной литературы.....	121
Список опубликованных работ.....	139

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И (ИЛИ) УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АлАТ – аланинаминотрансфераза

АОЗ – антиоксидантная защита

АсАТ – аспартатаминотрансфераза

АФМ – активные формы кислорода

АКМ – активные кислородные метаболиты

АТФ - аденозинтрифосфатаза

БАВ – биологически активное вещество

БАД – биологически активная добавка

в/ж – внутривенно

ВГВ - вирус гепатита В

ВСТ - восстановленного глутатиона

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ГП -глутатионпероксидазы

ТГ-триглицериды

ГР – глутатионредуктазы

ГСТ- глутатион-S-трансферазы

КАТ - каталазы

ЛД – летальная доза

ЛС - лекарственные средства

ЛПВП-липопротеины высокой плотности

ЛПНП- липопротеины низкой плотности

МОС – монооксигеназная система

МДА-малоновый диальдегид

НСV – Вирус гепатита С

NAD – никотинамидадениндинуклеотид

ОХС – общий холестерин

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЦР - полимеразная цепная реакция

СЭВ - сумма экстрактивных веществ

СОД -супероксиддисмутаза

ТГ –триглицериды

ТХМ - тетрахлорметан

ХС – холестерин

ЦНС – центральная нервная система

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭЛО – экстракт лагенарии обыкновенной

ЭХС – эфиры холестерина

HBV - hepatitis B virus

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В последние годы внимание исследователей в области биохимии, фармакологии и фармации сосредоточено на изучении лекарственных растений. Поскольку лекарственные растения безвредны по сравнению с синтетическими препаратами, получение из них биологически активных добавок является актуальным направлением для профилактики и лечения различных заболеваний.

Необходимо констатировать тот факт, что со времени выявления вируса вызывающего гепатит В (ВГВ), ряд исследователей всесторонне изучали как степень его распространения, так и его действие, вызывающее хроническую патологию печени. Было показано, что вирус гепатита В по сравнению с другими гепатотропными вирусами является самым распространенным [Ивашкин, 2002; Мансуров, 2007; D. Lavanchy, 2004, Ray Kim et all., 2007; Pungpramong, Kim, Poterucha J., 2007].

Из литературных данных известно, что растительные средства, обладающие антиоксидантными и гепатопротекторными свойствами, оказывают положительное влияние на стабилизацию мембран, укрепляют иммунную систему, а также обладают противовоспалительным и желчегонным свойствами [Мироджов и др., 2016].

Несмотря на то, что в настоящее время уделяется большое внимание разработке новых средств, обладающих целебными свойствами при лечении различных типов гепатита, количество больных с хроническим поражением печени остается довольно высоким, особенно среди людей работоспособного возраста. Следует отметить, что в Таджикистане за последние 10 лет рост заболеваемости хроническим гепатитом В составил около 0,8 – 0,9%, а среди подростков этот показатель возрос почти на 10% [Мироджов и др. 2015].

В частности, известно, что в народной медицине широко используются лечебные свойства лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.), однако до настоящего времени не исследованы биологически

активные соединения, входящие в состав растений, которые могут оказывать положительное воздействие на метаболические процессы и обмен веществ в организме.

Степень научной разработанности изучаемой проблемы. Ряд исследований показали, что лекарственные растения и их фитохимические соединения защищают от различных заболеваний печени. Поэтому большое внимание уделяется растительным препаратам, обладающим антиоксидантным, гепатопротекторным и лечебным свойством [Алексеева, 1991, Джамиллов, 2010, Корсун, 2005, Мансуров и др., 2007, Печенкина, 2014, Рамазова, 2014, Moritaetal, 2007, Peraetal, 1999, Rawat, 1997, Shim, 2010].

Выявление терапевтических особенностей отдельных лекарственных растений, произрастающих в Таджикистане, и получение на их основе новых средств, является перспективным научным направлением.

В связи с этим изучение биохимических и фармакологических свойств лагенарии обыкновенной, произрастающего в Республике Таджикистан, является важным и актуальным исследованием, наряду с другими лекарственными растениями, произрастающими в Таджикистане.

Связь исследования с программами (проектами), научной тематикой. Диссертационная работа выполнена в рамках темы Центра инновационной биологии и медицины Национальной академии наук Таджикистана «Разработка инновационных подходов, определяющих биобезопасность живых организмов» (№ ГР 0116 TJ00628).

Общая характеристика исследования

Целью исследования является изучение физико-химических и биохимических свойств лагенарии обыкновенной и разработка эффективного гепатопротекторного средства.

Задачи исследования:

1. Изучить физико–химические свойства лагенарии обыкновенной и определить в её составе биологически активные вещества.
2. Выявить безопасное применение настойки лагенарии обыкновенной в доклинических исследованиях;
3. Определить на экспериментальных животных терапевтическую эффективность настойки лагенарии обыкновенной при вирусном гепатите В.
4. Исследовать действие экстракта лагенарии обыкновенной с использованием биохимических показателей при токсическом гепатите у экспериментальных животных.

Объект исследования. Лагенария обыкновенная (*Lagenaria siceraria* (Molina Standl.) - однолетнее растение семейства тыквенных Cucurbitaceae Juss., выращенное на опытном участке Центра инновационной биологии и медицины НАНТ. Для проведения экспериментальных исследований были использованы крысы (порода Вистар) массой 150 – 220 г, в количестве 120 особей, а также 60 особей белых мышей, средней массой тела 18 – 22 г.

Предмет исследования. Эффективность гепатопротекторного действия экстракта лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) при гепатите.

Научная новизна исследования:

Изучены физико-химические свойства и биологически активные вещества настойки лагенарии обыкновенной. Исследована токсичность настойки лагенарии на лабораторных животных.

Впервые в условиях Таджикистана установлен факт влияния настойки лагенарии на уровень ДНК вируса гепатита В, а именно выявлено снижение репликации ДНК вируса и виремии, с использованием метода полимеразной

цепной реакции (ПЦР).

Исследования показали, что применение экстракта лагенарии обыкновенной значительно снижает активность ферментов, участвующих в процессе переаминирования, снижает уровень билирубина и щелочной фосфатазы, а также восстанавливает обменные процессы в печени и предупреждает развитие анемии у крыс, инфицированных токсическим гепатитом. Полученные результаты свидетельствуют о выраженной гепатопротекторной активности экстракта лагенарии обыкновенной при токсическом поражении печени на экспериментальных моделях, что позволяет обосновать проведение доклинических исследований, направленных на разработку новых гепатопротекторных средств.

Теоретическая и научно-практическая значимость исследования:

Разработана новая БАД, полученная на основе мякоти лагенарии обыкновенной, обладающая выраженным гепатопротекторным эффектом.

Экспериментально доказана безопасность и эффективность применения, лагенарии, при заболеваниях вирусным гепатитом В у животных.

В эксперименте на лабораторных животных установлена степень острой токсичности настойки из мякоти лагенарии обыкновенной, а также выявлен порог переносимости, которые свидетельствуют о том, что данный препарат обладает высокой биодоступностью и относится к препаратам 5-го класса опасности.

Экстракт лагенарии обыкновенной может быть рекомендован в качестве биологически активной добавки (БАД) для лечения и профилактики гепатита.

Положения, выносимые на защиту. На основе полученных материалов выносятся следующие защищаемые положения диссертации:

1. Содержание в экстракте лагенарии обыкновенной биологически активных веществ, обладающих гепатопротекторными свойствами.

2. Впервые показан ингибирующий эффект настойки лагенарии обыкновенной на ДНК вируса гепатита В методом ПЦР.

3. Разработка биологически активного вещества из лагенарии обыкновенной, снижающею активность ферментов переаминирования, содержание билирубина и щелочной фосфатазы, участвующих в восстановлении обменных процессов при токсическом гепатите.

Достоверность результатов исследования. Достоверность и обоснованность полученных результатов обусловлена применением в ходе исследования современных биохимических методов. Полученные результаты диссертации являются новыми и достоверными и представляют несомненный научный интерес.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности (с обзором и областью исследования). Диссертация соответствует паспорту ВАК при Президенте Республики Таджикистан по специальности 03.01.04 – Биохимия, пункт 5: «Анализ и синтез биологически активных веществ, выяснение их физиологического действия и возможностей применения полученных веществ в медицине и других отраслях народного хозяйства». Содержание диссертации полностью соответствует поставленным целям и задачам исследования по изучению биохимических и фармакологических свойств лагенарии обыкновенной с целью лечения и профилактики гепатобилиарной системы организма.

Личный вклад соискателя ученой степени в исследования. Соискателем самостоятельно осуществлен поиск и анализ зарубежных и отечественных источников литературы, а также проведены экспериментальные исследования на всех этапах. При написании диссертационной работы соискателем собраны первичные данные, проведен анализ, статистическая обработка и обобщение полученных результатов, сформулированы выводы, оформлена рукопись, подготовлены публикации по основным положениям диссертации. Обобщение результатов

диссертационной работы и написание статей выполнены автором совместно с научными руководителями. Доля авторского участия более 85%.

Апробация и реализация результатов диссертации.

Основные результаты диссертации доложены на международных и республиканских конференциях: Республиканской конф., посвящённой 25 – летию государственной независимости Республики Таджикистан «Роль молодых учёных в развитии науки, инноваций и технологий» (Душанбе, 2016); Республиканской научной конференции «Состояние биологических ресурсов горных регионов в связи с изменениями климата» (Хорог, 2016); Второй международной научно – практической конференции «Роль молодых учёных в развитии науки, инноваций и технологий» (Душанбе, 2017); Республиканской научной конференции посвящённой 20 – летию Дня национального единства. «Достижения современной биологии в Таджикистане» (Душанбе, 2017); Республиканской научной конференции «Адаптация живых организмов к изменяющимся условиям окружающей среды» (Душанбе, 2019); Республиканской научной конференции «Адаптация живых организмов к изменяющимся условиям окружающей среды» (Душанбе, 2021); IV Центрально-Азиатском конгресс клинических фармакологов «Современное состояние и перспективы развития клинической фармакологии» (Узбекистан, 2022); V- Международной научно – практической конференции фармакологов «Актуальные вопросы фармакологии: от разработки лекарств до их рационального применения» 2024 года, Узбекистан; Научно-практическая конференция «Наука видение молодых ученых», посвященная объявлению «Года правового образования», Душанбе. – 2024 год.

Этапы исследования.

Выполнение диссертации проводилось поэтапно.

На первом этапе (2016-2017 гг.) проведен анализ литературы по проблеме исследования; определена актуальность темы диссертации; сформулированы цель и задачи исследования.

На втором этапе (2017-2019 гг.) осуществлено составление программы экспериментального исследования по выбранной проблематике, подбор и обоснование методов исследования, обработка полученных результатов, проведен анализ и обобщение данных, полученных в эксперименте; подведены итоги, сделаны выводы по проведенному исследованию.

На третьем этапе (2019-2024 гг.) осуществлялась систематизация, обобщение и статическая обработка экспериментальных данных. Сформулированы выводы, завершено оформление диссертации.

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 7 работ в журналах, рекомендованных ВАК при Президенте РТ, одна статья в периодическом издании индексируемом РИНЦ и 11 тезисов в материалах международных и републиканских научно-практических конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 4 глав, результатов и их обсуждения, выводов и списка использованной литературы. Диссертация изложена на 142 страницах компьютерного текста, включает 8 таблиц и 26 рисунков. Список литературы включает 177 наименований, из них 69 на иностранных языках.

ГЛАВА 1. АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРЫ И ОБОСНОВАНИЕ ВЫБРАННОГО НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

1.1 Обзор встречаемости различных заболеваний печени

Вирусный гепатит представляет собой серьезную проблему для общественного здравоохранения из-за его широкого распространения и высокого уровня заболеваемости, особенно среди молодых людей трудоспособного возраста [87, 88, 89]. В настоящее время, вирус гепатита В занимает доминирующее место среди всех этиологических факторов заболеваний печени. По статистике, в мире насчитывается от 350 до 400 миллионов «носителей» вируса гепатита В [50, 91, 92]. Считается, что этим вирусом инфицировано примерно треть населения мира. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно во всем мире гепатитом В заражаются около 50 миллионов человек. Более 2 миллионов человек умирают от хронических заболеваний печени, вызванных этим вирусом. [10, 22, 59, 72]. «Следует констатировать тот факт, что до настоящего времени отсутствует общепринятый протокол лечения хронического гепатита «В», что оказывает влияние на распространение данного заболевания среди населения разного возраста. Одной из причин роста заражения вирусным гепатитом является отсутствие препаратов целенаправленно оказывающих эффективное действие на вирусы, вызывающие гепатиты. Очень часто, используемые препараты вызывают различные сопутствующие явления, а именно как анемия, лейкопения и ряд других аллергических патологий» [51].

По данным Б.А Ишанкулова 2014 «Эти исследования вызывают необходимость поиска новых препаратов, новых лекарственных средств, которые могут обладать более эффективными свойствами и быть менее или практически нетоксичными. Необходим поиск новых лекарственных средств, в частности, из растений обладающих лекарственными свойствами» [40].

Как известно ныне существующие препараты нередко сами обладают гепатопротекторными свойствами, это обуславливает поиску новых природных лекарственных растений, сырья. В Таджикистан растут более 1500

лекарственных растений они являются экологически чистые и богаты макро- и микроэлементами, активными веществами, флавоноидами и маслами [161]. «Необходимо отметить, что соединения, обладающие гепатопротекторными свойствами, содержащиеся в составе растений, в значительной степени устраняют токсическое действие патологических агентов на уровне их метаболизма. Следовательно, гепатопротекторные соединения, содержащиеся в растительных средствах, обладают двойными свойствами, которые улучшают как регенерацию, так и регрессию фиброза ткани печени» [28].

Как считают Г.К., Мироджов и другие 2016 «Гепатопротекторы — средства, нормализующие метаболизм клеток печени и представляющие значительный интерес в комплексном лечении хронического диффузного поражения печени. Сегодня потребность в гепатопротекторных препаратах по-прежнему высока. Потому что среди причин поражения печени на первом месте стоят токсические и метаболические факторы, а также вирусы. Растительные фосфолипиды, ненасыщенные жирные кислоты и жирорастворимые витамины занимают особое место в профилактике метаболических поражений печени (неалкогольной болезни печени). В этом контексте представляется важным поиск новых, наиболее эффективных растительных гепатопротекторов с выраженными гипополипидемическими и антиоксидантными свойствами с изучением механизма их действия» [6, 69].

«Учитывая вышеизложенное, для лечения и профилактики различных заболеваний печени, наряду с синтетическими препаратами, широко используются лечебные средства на основе лекарственных растений, содержащих в своем составе флавоноиды, полифенолы, эфирные масла и др».

Согласно Г.К., Мироджов и другие 2012 «В настоящее время во многих отечественных и зарубежных научных центрах ведутся целенаправленные исследования по разработке и внедрению новых гепатопротекторов растительного происхождения» [53, 67, 68, 135, 139, 153].

По мнению Е.Г. Доркина, 2004 «Установлено, что CCl_4 даже в малых дозах вызывает существенные патоморфологические изменения в клетках печени, что приводит к значительным нарушениям метаболизма соединительной ткани печени, жировой и белковой дистрофии в клетках печени, развитию некроза». [3, 7, 8, 17, 33].

На основе лагенарии обыкновенной разработан препарат **синотек**. Препарат синотек из лагенарии обыкновенной обладает выраженными гепатопротекторными свойствами. Так в терапии вирусных заболеваний печени может быть широко рекомендован синотек, который значительно эффективно способствует выздоровлению больных и ликвидирует эпидемиологические очаги вирусного гепатита [42,43].

«По данным литературы, были проведены исследования по производству большого количества растительных гепатопротекторов, включающих различные компоненты: Дипана (Promed Export), в состав которого входят такие растения, как *Picrorhiza kurroa*, *Andrographis paniculata*, черный паслен, *Phyllanthus niruri*, *Tinospora cordifolia*, имбирь и перец; LIV-52 (гималайская медицина), обычно содержащая цикорий, каперсы, тысячелистник, кассию западную, терминалию арджуну, черный паслен, *Tamarix gallicum* и практикуется индийскими учеными. Затем был синтезирован препарат Дипан» [55, 69].

Согласно данным Н.Х.Ганиев и другие 2018 «Положительный эффекте лекарственных средств из растений можно отметить на примере препарата полученного из сбора, состоящего из корня Астрагала мохнатого «*Astragalus lasiosemius* Boiss», корня и корневища Солодки голой, «*Glycyrrhiza glabra* L.», мякоти Лагенарии обыкновенной «*Lagenaria siceraria*», бересты берёзы «*Bétula*». Эти исследования проведены в Центре биологии и медицины НАНТ, а полученная настойка названа «Гепатрил». Сравнительные исследования гепатопротекторных свойств растительного лекарственного сбора «Гепатрил» при экспериментальном гепатите, вызванном интоксикацией CCl_4 , установили, что трехмесячное введение

CCl₄, способствует повышению активности маркеров цитолитического синдрома (АлАТ, АсАТ) и холестаза (ЩФ, билирубин). Также нарушается обмен белков, углеводов и развивается анемия. Выявлено, что лекарственный сбор «Гепатрил» достоверно снижает активность ферментов процесса переаминирования, уменьшает содержание билирубина и щелочной фосфатазы, а также восстанавливает обменные процессы и предотвращает развитие анемии у крыс с подострым токсическим гепатитом. По эффективности лекарственный сбор «Гепатрил» превосходит известный препарат Карсил» [21, 26, 44].

И. Д. Мансурова, 1976 считают: «Следует отметить, что и другие растения могут быть использованы в качестве основы для открытия новых фитогепатопротекторов. В частности, трава гороха, на основе которой разработаны препараты Пифламин и Алтан, обладающие антиоксидантным и гепатопротекторным действием» [3, 62].

Согласно литературным данным Г.К. Мироджов и другие 2016: «Лекарственные растения широко используются учеными Японии. Исследования японских ученых направлены на получение индивидуальных химических соединений из лекарственных растений, на основе которых могут быть созданы новые препараты, содержащие биологически активные вещества, обладающие гепатопротекторным, противовоспалительным, противовирусным и иммуномодулирующим действием. В частности, в Японскую фармакопею уже более 60 лет включен препарат Стронгера Нео Менофагина, который применяется, в том числе, для лечения заболеваний печени. В состав этого продукта входит глицирризин — экстракт сапонинового компонента корня солодки голой (*Glycyrrhiza glabra*) (сушеные корни и корневище), а также глицин и цистеин. «Многогранные фармакологические эффекты этого препарата включают стабилизацию клеточных мембран (цитопротективный эффект), стимулирующее рост действие на гепатоциты и антиоксидантное действие» [69].

Такие исследователи как В.А. Мышкин 2018 и др. «Рассматривая механизм действия гепатопротекторов, следует отметить, что ни один препарат не обладает абсолютной специфичностью. Однако даже если они существуют, гепатопротекторы могут вызывать эффекты, обусловленные вовлечением в патологический процесс многочисленных механизмов» [73, 98].

По данным В.А. Киркина в 2003 «Среди лекарственных растений, для которых разработано множество гепатопротекторных средств, заслуживает внимания расторопша. Исследование семян плодов расторопши показало, что они содержат большое количество флаволигнанов (силибинин, изосилибинин, дигидросилибинин и др.). Все эти соединения обладают гепатопротекторным действием. Препараты, полученные из расторопши, более эффективны в отношении биохимических процессов, отвечающих за снижение перекисного окисления липидов, биосинтез белков и фосфолипидов, укрепление иммунной системы. Примечательно, что силибинин при алкогольной болезни печени подавляет цитотоксические CD8⁺ лимфоциты и увеличивает бластную трансформацию В-лимфоцитов и продукцию γ -глобулина» [45].

«Во многих странах мира из частей расторопши производят препараты, которые считаются представляющими интерес для фармацевтической промышленности в целом. Это Гепарсил (Украина, Строрубиофарм). Дарсил (Дарница, Украина); Карсил (Софальма, Болгария); Легалон (Мадаус, Германия) и др.» [39,69].

«В то же время следует отметить, что биологически активные вещества плодов расторопши пятнистой обладают выраженным гепатопротекторным действием, но не проявляют выраженного желчегонного, спазмолитического или анальгезирующего действия» [83, 45].

Согласно Г.К. Мироджов и другие 2016 «Стоит отметить, что благодаря полезным свойствам расторопши многие фармацевтические компании начали выпускать растительные лекарственные средства, сочетающие

расторопшу с другими травами, обладающими желчегонными, спазмолитическими, обезболивающими и противовоспалительными свойствами». В связи с этим разработано несколько лекарственных препаратов на основе этих ингредиентов: Гепатофальк Планта (Dr. Falk, Германия) - расторопша пятнистая, куркума яванская, чистотел. Галустина (Р. Бутнер, Австрия) — расторопша пятнистая, чистотел, череда лекарственная. Гепабен (Меркель, Австрия) — расторопша пятнистая, лекарственный фумигант. Шибактан (Россия, Велар) — смесь расторопши, тысячелистника, зверобоя, березы и других трав» [39,69]. Содержит масло расторопши и кверцетин. Последний относится к семейству изофлавонов и обладает противовоспалительными, мочегонными, спазмолитическими, кардиопротекторными, седативными и антиоксидантными свойствами. Кверцетин в составе усиливает действие расторопши. Кверцетин также содержится в красном луке, гречке, красном винограде, малине, чернике, облепихе, рябине, экзотической вишне без косточек и т. д. В основном он содержится в красных и фиолетовых растениях» [83, 45].

По данным И.В. Шахгильдян, 2005: «В связи с разработкой новых современных технологий получения новых лекарственных препаратов ученые начали исследования, на основе которых стали создавать гепатопротекторные средства, содержащие комплексы растительных компонентов и органических кислот, витаминов и микроэлементов. В частности, установлена высокая эффективность «тройной антиоксидантной схемы» тиоктовой кислоты, силимарина и селена при лечении вирусного гепатита С» [102].

«Следует отметить, что в состав швейцарских фармацевтических препаратов, таких как «Симепар» (Mefa, Швейцария), входит комплекс витаминов (В1, В2, В6, В12, никотинамид, пантотенат кальция) и экстракт расторопши пятнистой [69]. В качестве примеров можно привести гепатопротекторный препарат Липофен (Дарница, Украина), содержащий соевые фосфолипиды, фруктан, витамины В1, В6, Е и соевое масло, а также

гомеопатический инъекционный препарат из 26 компонентов Гепар композитум (Хиль, Германия), из соединений, полученных как из растительных, так и из животных источников. Комплекс растительных экстрактов и компонентов животного происхождения, органических кислот и солей, микроэлементов и витаминов в гомеопатических дозах оказывает гепатопротекторное, детоксикационное и метаболическое действие» [102].

«Таким образом, можно отметить, что такой подход к получению лекарственных препаратов и их эффективное действие зависят от непосредственного участия химических соединений, особенно биофлавоноидов, которые реализуют свое действие через систему фенол-семихинон-хинон». В этой системе, пожалуй, наиболее важную роль играет нестабильный семихиноновый радикал, который служит ловушкой для других реакционноспособных радикалов. Как известно из анализа литературы, в составе лекарственных растений содержится целый комплекс биологически активных соединений, в том числе (алкалоиды, терпены, хлорофиллы, каротиноиды, витамины, макро- и микроэлементы), которые способствуют блокировке свободнорадикальных соединений и способны напрямую влиять на метаболизм гепатоцитов, тем самым улучшая их функцию [35, 36].

Согласно литературным данным Г.К. Мироджов, М.М. Якубова, М.О. Убайдулло, М.К. Курбонов, Р.А. Ашурова 2018: «К комбинированным фитопрепаратам, применяемым в качестве средств защиты печени, относится также российский препарат Сибектан, содержащий сухие экстракты пижмы, ягод расторопши, зверобоя и листьев березы. Трава зверобоя содержит флавоноиды, эфирные масла и дубильные вещества, оказывающие вяжущее и противовоспалительное действие на слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта. Цветки пижмы также содержат различные флавоноиды, эфирные масла и органические кислоты, обладающие желчегонным действием (повышают сократительную активность желчного пузыря).

Экстракт листьев березы обладает антисептическими, желчегонными и мочегонными свойствами» [70].

«В состав препарата «Лохеин», созданного учеными Сибирского медицинского университета, входит более 20 микроэлементов и макроэлементов, а также широкий комплекс биологически активных веществ растительного происхождения. Клинически подтвержден гепатопротекторный эффект Лохеин при хронических активных гепатитах вирусной и алкогольной этиологии. «Лохеин» имеет более выраженные клинические эффекты по сравнению с препаратом «Карсил» [90].

По данным литературы, В.А. Барабой, 1984: «Препарат Люцерон разработан на основе экстрактов травы люцерны и изучено его влияние на функциональное состояние гепатобилиарной системы. Люцерон получают путем обработки растительного сырья экстрагентом, содержащим смесь солей микроэлементов, таких как Fe, Zn, Mn, Co, Cr, Se, Mo, F и др. На всех моделях экспериментального гепатита, вызванного четыреххлористым углеродом, алкоголем и тетрациклином Люцерон оказывает более выраженное гепатопротекторное действие по сравнению с Силибором (действующее вещество Силимарин). Установлено, что люцерон восстанавливает синтез желчных кислот» [12].

«Антиоксидантное действие дигидрокверцетина изучалось при экспериментальном гепатите, индуцированном четыреххлористым углеродом» [79, 93].

«В Институте гастроэнтерологии Республики Таджикистан было разработано средство «Гепатоман» для лечения и профилактики острого и хронического гепатита С. Средство содержит биологически активные вещества березы повислой, шиповника, корни цикория обыкновенного, родиолы розовой, девясила высокого, клубей топинамбура и травы зверобоя продырявленного. Опыты, проведенные на мышах, показали, что Гепатоман у 70 % мышей с экспериментальным гепатитом HCV-этиологии подавляет репликацию вируса и нормализует активность ферментов процесса

переаминирования. Предлагаемое средство, позволяет использовать его для лечения HCV – инфекции» [57, 68].

Согласно данным М.К. Курбанов 2015: В Центре инновационной биологии и медицины НА Республики Таджикистан проведены исследования гепатопротекторного и противовирусного действия плодов лагенарии обыкновенной. Водно-спиртовая настойка плодов лагенарии обыкновенной содержит флавоноиды, тритерпеновые гликозиды, сапонины, эфирные нелетучие масла, витамины, микроэлементы, такие как цинк и селен. Лагенария обыкновенная обладает выраженными гепатопротекторными свойствами, и может быть широко рекомендована в клинической практике [49, 78].

Как считают Ч.Н. Рамазова, 2014: «В области гепатологии известен фитопрепарат Тиквеол (Европа Биофарм, Россия). Его фармакологическая активность определяется биологически активными веществами, полученными из семян тыквы. Токоферолы, каротиноиды и эссенциальные фосфолипиды, присутствующие в семенах тыквы, активны в метаболических процессах, ответственных за устойчивость организма к действию вирусов, поражающих ткани печени» [83].

Г.Л. Вышковского 2006, считают: «В настоящее время на основе лекарственных растений созданы и широко используются в гепатологии эффективные гепатопротекторы. Благодаря тому, что в Таджикистане выращивается огромное количество лекарственных растений, содержащих биологически активные соединения, микроэлементы и витамины, существует реальная возможность разработки новых высокоэффективных гепатопротекторов» [83].

По мнению М.Н. Назаров, 2018: «Развитию фармации и фармацевтической промышленности практическая медицина обогатилась множеством высокоэффективных синтетических препаратов, однако растительные препараты, изготовленные на основе лекарственных растений,

по-прежнему занимают ценное место среди комплексных лечебных препаратов» [47, 74].

«Использование лекарственных растений для улучшения здоровья человека и лечения болезней началось еще в глубокой древности» [1, 18, 29, 34, 48, 65, 71]. К преимуществам лекарственных растений относятся низкая токсичность, легкая доступность, широкий спектр фармакологического действия, а также более физиологическое вмешательство в обмене веществ в организме [5, 35, 64, 81]. «Абу Али ибни Сино, великий таджикский учёный, энциклопедист и прекрасный врач, в своей книге «Медицинский авторитет» описывает более 800 лекарственных растений, в том числе дикорастущих. Этот великий учёный указывает, что многие дикорастущие растения богаче и полноценнее биологически активными веществами (БАВ), чем некоторые культурные растения» [2, 14, 15, 77].

Польза дикорастущих растений отмечена и в исследованиях современных учёных [13, 41, 82]. На территории Республики Таджикистан (РТ) произрастает 4513 видов растений, из них 640 являются эндемическими [63].

1.2. БОТАНИКО-ФАРМАКОГНОСТИЧЕСКИЙ И ХИМИКО- ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ЛАГЕНАРИИ ОБЫКНОВЕННОЙ

СМЕЙСТВО ТЫКВЕННЫЕ - CUCURBITACEAE Juss.

Растения одно и двудомные. Цветки однополые, реже обоеполые, правильные, 5-членные, пазушные, одиночные или собраны в небольшие пучки, кисти, метелки, зонтики. Околоцветники тычиночных и пестичных цветков сходны, немного отличаются размером. Тычиночные цветки у однодомных растений нижней, реже в одной пазухе. Цветоложе колокольчатое, воронковидное, бокаловидное, плоское, кубарчатое, конусовидное, опушенное. Чашечка лопастная. Венчик сростнолепестный, колокольчатый, воронковидный, лопастный, раздельный или рассеченный, жёлтый, белый, зеленоватый, иногда красный. Тычинки в числе (2—3) 5,

обычно 4 из них попарно сросшиеся, одна свободная или все сросшиеся и образующие центральную колонку (*Cucurbita* L.), реже все свободные (*Luffa* Adans.); нити короткие; пыльники (1) 2-гнездные, извилистые, вскрываются продольно; пыльцевые зерна 3-бороздно-оровые, 3—8-поровые, шаровидные, эллипсоидальные или слегка сплюснутые с полюсов, борозды широкие, с гладкой или зернистой мембраной, поры эллиптические или округлые, поры ободковые, округлые, рисунок поверхности мелко- или крупносетчатый, либо шиповатый. В тычиночных цветках имеется рудимент пестика, в пестичных — зачатки тычинок (стаминодии). Гинецей состоит из 3 (4—5) плодолистиков; завязь нижняя, иногда полунижняя, б. ч. 3-гнездная, плацента париетальная, мясистая, разрастающаяся, далеко вдаётся в полость. Семяпочки многочисленные, реже их немного, анатропные. Столбик 1, короткий, с 3 и 2-лопастными подкововидными толстоватыми мясистыми рыльцами. Плод — тыква с твердым наружным слоем околоплодника и мясистым сочным внутренним или ягода. Семена многочисленные, без эндоспермы.

Травянистые растения, реже кустарники и небольшие деревья. Стебли стелющиеся или лазающие при помощи спирально закрученных усиков (видоизмененных побегов), реже без усиков. Листья очередные, без прилистников, черешковые, цельные, угловатые, пальчато-лопастные, пальчато-раздельные, пальчато рассеченные и перистые.

Семейство включает 130 родов и до 900 видов (Jeffrey, 1980), распространенных главным образом в тропических и субтропических областях обоих полушарий. В бывшем СССР 15 родов и 29 видов, в Таджикистане 8 родов и 15 видов, из них дико произрастают 4 вида, остальные широко культивируются.

Многие представители тыквенных — ценные пищевые, так называемые бахчевые культуры (арбузы, дыни, огурцы, тыквы), а также лекарственные, медоносные (опыляются пчелами, осами и шмелями) и декоративные растения; из представителей некоторых родов получают растительную

губку (*Luffa Adans.*), посуду (*Lagenaria Ser.*) [80].

Род Горлянка - *Lagenaria Ser.*

Растения однодомные. Цветки однополые, одиночные. Тычиночные цветки на длинных цветоножках. Цветоложе воронковидное, бокаловидное. Чашелистиков 5. Венчик белый, рассеченный почти до основания. Тычинок 5, из них 4 попарно сросшиеся и одна свободная, имеется зачаток пестика в виде железки. Пестичные цветки на более коротких цветоножках, с 3 слабо развитыми стаминодиями. Завязь яйцевидная или цилиндрическая. Плоды нераскрывающиеся, многосемянные, различной формы, с твердой одревесневающей наружной оболочкой, внутри мясистые. Семена обратнойяйцевидные, сплюснутые.

Однолетние растения с лазящими или лежачими стеблями, мягко опушенные, с мускусным запахом. Усики 2-раздельные. Листья очередные, зубчатые, черешковые. Черешки сверху с 2 железками.

Монотипный род, культивируется в теплых странах. [80]

Лагенария обыкновенная или Горлянка обыкновенная, тыква-горлянка.

Лагенария обыкновенная [46], или Горлянка [24. 20], или Горлянка обыкновенная [63], или Тыква горлянка[63] или Тыква бутылочная [24,66], или Лагенария змеевидная [46], или Огурец индийский [46], или Кабачок вьетнамский [46], - Растение 2—15 м дл. Стебель толстый, угловатый, густо железисто опушенный. Листья бархатисто опушенные; черешки полые, цилиндрические, толстые, жесткие; пластинка 10—40 см в диам., округло-сердцевидная, угловатая или 3-лопастная, неравномерно зубчатая, острая или тупая, бархатисто опушенная. Цветки пазушные, одиночные. Тычиночные на цветоножках длиннее черешка, пестичные на цветоножках, равных черешку или немного короче его. Доли чашечки 2—3 см дл., узкотреугольные. Венчик 3—4 см дл., 2—3 см шир., наверху б. м. выемчатый, с остроконечием, курчавый, войлочно опушенный. Завязь мохнатая от густых длинных волосков. Плоды разнообразной формы и

величины, голые. Семена 7—20 мм дл., яйцевидные, продолговатые или треугольные, наверху усеченные или 2-зубчатые, реже округлые. Цв. VI—X; пл. VIII—XI.

Родина — Америка. Культивируется во всех теплых зонах земного шара, в том числе в Таджикистане. [80]

Тыква горлянка — древнее растение, ученые спорят о том, на каком континенте она появилась. Одни полагают, что ее родина тропики Америки, однако было установлено, что бутылочная тыква (горлянка) произрастала в Китае, где использовалась как овощная культура [83. 81. 120. 158. 86. 85. 16. 37].

Хоз. значение. Тыква-горлянка («бутылочная», или «посудная», тыква) относится к числу древнейших и оригинальнейших растений; плоды этого растения находят применение в качестве удобной дешевой легкой и портативной «посуды», имеющей вид фляги или графина, употребляются для хранения воды. В семенах до 50 % невысыхающего масла [80].



Рисунок 1. Внешний вид лагенарии обыкновенной- *Lagenaria siceraria*

Химический состав. Согласно литературным данным, плоды лагенарии содержат 3,0-4,0 % сахаров, 0,5 % клетчатки, 0,5-0,6 г протеина. В составе 100 г сырого вещества содержится минералы, соединения калия (218-225 мг), кальция (15-18 мг), натрия (1,5-2 мг), железа (0,5 мг). Мякоть богата

витаминами (мг%): С – 15-17; В₃ – 12; В₆ – 0,11; В₁ и В₂ – по 0,03; РР – 0,5; каротин – 0,2 [76].

Содержание аминокислот в мг в 100г плодов лагенарии следующее: Аргинин 0,1, Валин 0,2, Гистидин 0,06, Изолейцин 0,4, Лейцин 0,42, Метионин 0,07, Треонин 0,76, Триптофан 0,4, Лизин 0,7, Фенилаланин 0,2 [76].

По данным литературы известно, что лагенарии обыкновенной содержит углеводы, белки, жиры и минералы, включая кальций и фосфор [133, 126], и является хорошим источником аскорбиновой кислоты, β-каротина, комплекс витаминов группы В, пектиновых растворимых пищевых волокон и аминокислоты [104, 108, 119, 121, 133]. В семенах содержатся алкалоиды, стероиды, углеводы, жиры, белки, калий, натрий, кальций, цинк и железо [65]. Также он содержит высокий уровень холина (липотропный фактор), который необходим для функции мозга [129, 137]. Плод содержит флавоноиды, алкалоиды, кукурбитацины, стероиды, сапонины и полифенольные соединения [117, 123]; тритерпеноиды и флавоноидные С-гликозиды [100, 108]; эллагитаннины [107]; тритерпеноид кукурбитацины В, D, G, H, 22-дезоксикукурбитацин [108, 110, 156]; и фукостерин и кампестерин [154]. В соке содержится фермент β-гликозидаза-эластераза [121, 152]. Изолированная слизь из плодов *L. siceraria*, в силу нетоксичности, биосовместимости и ее низкой стоимости, по сравнению с синтетическими препаратами, используются в пищевой, косметической, фармацевтической промышленности в качестве загустителя, эмульгатора, суспензирующего и стабилизирующего водопоглощающего агента [122].

1.3. Лечебные свойства лагенарии обыкновенной, применение её в народной и традиционной медицине

Листья и плоды растения используются в народной медицине. Плод используют для лечения заболеваний желудка и кишечника, а также для очищения организма. Настои из мякоти способствуют укреплению иммунитета и повышению защитных сил организма. Из листьев готовят

настойку и отжимают сок. Их используют для лечения кожных заболеваний [32].

Лагенария обладает уникальными лечебными свойствами. Употребление его в пищу предотвращает закаливание и ожирение, улучшает обмен веществ, лечит желудочно-кишечные заболевания, укрепляет иммунитет, выводит радионуклиды, соли и тяжелые металлы, снижает артериальное давление, помогает при заболеваниях почек различной этиологии [32].

Плод используют как пищевой продукт при заболеваниях печени. Помимо предотвращения склероза, они также помогают выводить токсины из организма. В народной медицине для лечения гастрита применяют молодые плоды и зеленые побеги. Семена используют как сырье для противогельминтного лечения. И они безвредны для организма [31].

По данным литературы известно, что лагенария используется как кардиотоническое, общеукрепляющее и мочегонное средство в Бангладеше, Индии, Китае, странах Европы, в Бразилии, на Гавайских островах и т.д., в качестве кардиотонических, общеукрепляющих и мочегонных средств. Кроме того, противодиабетическая [116], антигиперлипидемическая [148], антигепатотоксическая [134], обезболивающая [155], нейропротекторная [151], противораковая [94], кардиозащитная [149], противовоспалительная [111], иммуномодулирующая и антиоксидантная активность его фруктового экстракта была оценена во многих странах. В некоторых странах это растение традиционно используется в качестве единственного средства для лечения сахарного диабета.

По данным новейшей литературы известно, что лагенария обыкновенная, используемая в традиционной медицине, имеет иммуномодулирующее, гепатопротекторное, кардиозащитное, антиоксидантное, антистрессовое и адаптогенное, антигиперлипидемическое, анальгезирующее и противовоспалительное свойства а новый белок, лагенин (20 кДа), выделенный из ее семян, обладает противоопухолевым, противовирусным, антипролиферативным и анти-ВИЧ свойством.

Потребление бутылочной тыквы можно считать средством улучшающее здоровье человека. Но самособой, разумеется требуются дополнительные исследования [122].

Антиоксидантные и гепатозащитные свойства лагенарии обыкновенной и частое употребление овощей, содержащих антиоксиданты, связано с пониженным риском появления рака, сердечных заболеваний, гипертонии и инсультов [132, 159, 161]. Основные группы фитохимических веществ, которые, как считается, действуют как антиоксиданты, включают полифенолы, каротиноиды, и витамины С и Е. Плоды *L. siceraria* содержат эти антиоксидантные соединения [106, 108, 124]. Этанольный экстракт *L. siceraria* содержит антиоксидантные соединения, эквивалентные 50 мг / кг витамина С плюс 50 мг /кг витамина Е [106]. Антиоксидантная активность фруктов, улавливающая радикалы, находится в основном в эпикарпе лагенарии, из которого он может быть извлечен [106]. Ацетоновый экстракт плодов *L. siceraria* обладал более высокой антиоксидантной активностью, чем сок мякоти плодов [106].

Иммуномодуляторные свойства биоактивных молекул растительного происхождения усиливают иммуномодуляцию регулированием иммунных ответов посредством стимуляции или подавления [95, 99, 114, 118]. Обнаружено, что экстракты плодов *L. siceraria* при 100, 200 и 500 мг/кг ингибируют реакцию гиперчувствительности замедленного типа у крыс. Фракция экстракта *L. siceraria*, растворимая в н-бутаноле по сравнению с фракцией, растворимой в этилацетат (дозе 500мг/кг), показало повышенный титр образования антитела как начального так и среднего уровня. В обеих фракциях увеличивается общее количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов, и незначительные изменения наблюдались в моноцитах, эозинофилах и базофилах, что установлено подсчётом. Дозозависимое увеличение титров первичных и вторичных антител указало, что *L. siceraria* обладает иммуномодулирующей активностью [106, 114]. Смеси стеролов и флавоноидов были из н-бутанол и этилацетат растворимых фракций

этанольного экстракта плодов *L. siceraria*, идентифицирован как олеаноловая кислота (I), смесь ситостерина (II) и кампестерина (III), изокверцитрина (IV) и каемпеферол (V). Соединения I и IV увеличивают анти-гемагглютинацию титра антител и подавляют реакции гиперчувствительности замедленного типа у крыс. Они увеличивают скорость выведения углекислоты из крови мышей, что свидетельствует об увеличении фагоцитоза [113]. Аналогичным образом, водорастворимые полисахариды, изолированные из горячего водного экстракта стеблей *L. siceraria*, обладают иммуномодулирующим действием [127].

Плод лагенария обыкновенной из семейства тыквенных широко используется в качестве лекарственного овоща в Азии и Африке для лечения различных заболеваний. Альтернативная медицина изготавливается из нескольких компонентов этого растения, включая плоды, семена, листья и корень [149]. В аюрведе и других народных средствах лечения было отмечено, что плоды растения обладают возможными терапевтическими преимуществами. Традиционное использование плода включает кардиопротекторные, противоядные, афродизиакальные, кардиотонические, мочегонные и общеукрепляющие свойства [149]. Фруктовый сок был лекарством от желтухи и других заболеваний печени, поскольку он обладал хорошими антиоксидантами [132, 159, 161]. Этому растению приписывают различные полезные для здоровья человека свойства, такие как антиоксидантное, гиполипидемическое, мочегонное, слабительное, гепатопротекторное, анальгезирующее, антигипертензивное, кардиопротекторное, стимулирующее центральную нервную систему, антигельминтное, очищающее от свободных радикалов, иммунодепрессивное и адаптогенное [148]. Оно также используется как контрацептивное, мочегонное и кардиотоническое средство. Также присутствуют противовоспалительное, противокашлевое, цитотоксическое и отхаркивающее действие [148].

Изучалась диуретическая эффективность метанола и высушенного в вакууме сока плодов. У крыс-альбиносов объем мочи был больше по сравнению с контрольной группой. Оба экстракта показали дозозависимое увеличение экскреции электролитов [122]. Растительный вид способствует улучшению пищеварения, устраняет проблемы с мочеиспусканием, а также способствует снижению веса и артериального давления [122]. Для лечения заболеваний и расстройств у людей *L. siceraria* использовалась в нескольких системах традиционной медицины. Этот овощ содержит много воды и мало калорий. Семена также используются при головных болях и запорах, поскольку они оказывают охлаждающее воздействие на организм [122].

После сушки плоды используются в качестве резонансных коробок для коры и балафона (ксилофона). Питиевая вода, молоко, ликер, местное вино, овсянка, продовольственное зерно, животный жир, мед, табак, топленое масло, соль, духи, лекарственные травы и семена сельскохозяйственных культур хранятся и транспортируются в сушеных плодах бутылочной тыквы. Ульи, емкости для приготовления пива или хранение одежды и столовых приборов — все это создается из скорлупы сушеных плодов. Многие музыкальные инструменты и красивые украшения изготавливаются из сушеных бутылочных тыкв [149]. Лечебные способности выющегося растения использовались для лечения различных расстройств, включая желтуху, язвы, колит, диабет, безумие, проблемы с кожей, гипертонию, геморрой и застойную сердечную недостаточность. Мякоть плодов обладает охлаждающим, мочегонным, противожелчегонным и грудным свойствами, используется как рвотное и слабительное. Эту мякоть, сваренную в масле, используют при лечении ревматизма и бессонницы [111].

Лагенарии обыкновенной является традиционным лекарственным средством, а также частью растительной пищи. Описаны иммуномодулирующая, антиоксидантная, гепатопротекторная, антистрессовая, кардиопротекторная, адаптогенная, противовоспалительная, антигиперлипидемическая и анальгетическая активность. Было показано, что

лагенин, обладает противораковыми, противовирусными, антипролиферативными и анти-ВИЧ свойствами [122].

Для растения также были предложены антиоксидантные, антигипертензивные, гепатопротекторные, кардиопротекторные, слабительные, мочегонные, стимулирующие центральную нервную систему, адаптогенные, иммунодепрессивные, гиполипидемические, анальгетические, антигельминтные и очищающие от свободных радикалов свойства. Эта мякоть, отваренная в масле, используется при лечении ревматизма и бессонницы [106, 114].

Было обнаружено, что полисахариды, извлеченные из различных частей растения, обладают иммуномодулирующей, противовоспалительной, противоопухолевой, кардиопротекторной, антиоксидантной, гепатопротекторной, антидиабетической, антигиперлипидемической и анальгетической активностью за последние три десятилетия. Было предложено несколько полисахаридов, выделенных из различных частей *L. siceraria*, с различными структурами. Помимо своих различных биоактивных качеств, это растение обладает способностью детоксицировать почву от тяжелых металлов посредством процесса биоремедиации [106, 114, 149].

Антимикробная активность экстрактов лагенарии обыкновенной против *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumonia*, *E. coli* и противогрибковых штаммов (*Aspergillus flavus*, *Trichoderma harzianum* и *Aspergillus oryzae*) была от умеренной до сильной. Плоды *L. siceraria* обладают способностью стимулировать выведение желчных солей, а их добавление снижало уровень жира у крыс с течением времени. Авинаш и др. описали противоязвенное действие *L. siceraria*. Длительное введение порошка плодов *L. siceraria* проводилось крысам, которым вводили дексаметазон. Согласно полученным данным, гипертония у крыс снизилась [149]. Неочищенный метанольный экстракт лагенарии обыкновенной обладает противоглистным действием против индийского дождевого червя *Pheretima posthuma*. В результате листья лагенарии

обыкновенной, как полагают, обладают значительным антигельминтным действием [149]. Адедапо и др. [149]. исследовали влияние экстракта листьев на отек лап, вызванный каррагинаном и гистамином, у крыс с опухшими лапами. Кроме того, авторы использовали мышей для проведения уксуснокислотных корчей и формалиновых тестов. У крыс ученые обнаружили существенное снижение отека лап, продолжительности и частоты вылизывания. Он обладает антигиперлипидемическим, кардиопротекторным, гепатопротекторным, диуретическим, антидиабетическим и антигиперлипидемическим действием [116].

В растении были обнаружены антиоксидантное, противомикробное, действие на центральную нервную систему, защитное действие от бронхоспазма, антигипергликемическое, противодиарейное, гепатопротекторное, анальгезирующее, противоглистное, противовоспалительное, кардиопротекторное, цитотоксическое, противодиабетическое, противораковое, антигиперлипидемическое, иммуномодулирующее и диуретическое действие [95, 99, 114, 118].

Анальгетическая эффективность метанольных и водных экстрактов плодов была исследована с использованием метода погружения хвоста на крысах для обеспечения научной обоснованности народного медицинского использования лагенарии обыкновенной метанольный умеренной активностью, тогда как водный экстракт обладает высокой активностью, согласно тесту на порог боли. Это подтверждает историческое использование растения при болезненных и воспалительных заболеваниях [111]. Наночастицы оксида цинка, полученные из экстракта *L. siceraria*, обладают экстракт обладает антимикробными, противоперхотными и противоартритными свойствами [122].

Водная фракция плодовых плодоножек *L. siceraria* обладает значительной ингибирующей активностью альфа-амилазы. Это упражнение используется в качестве метода управления уровнем глюкозы в крови. Превращение крахмала в глюкозу замедляется, когда панкреатическая альфа-

амилаза блокируется в тонком кишечнике. В результате образуется меньше глюкозы и попадает в кровоток, что позволяет использовать ее в качестве антидиабетического препарата [116]. Добавление Эталонный экстракт LS усиливает липидный метаболизм и действует как профилактический механизм против образования атеросклероза у диабетических крыс, а также снижает диабетические последствия перекисного окисления липидов за счет повышения антиоксидантного статуса. Как следствие, надземные части метанолового экстракта *L. siceraria* можно считать богатым источником антидиабетических препаратов, возможно, из-за содержания в экстракте флавоноидов и полифенолов [116].

Экстракты мякоти и семян лагенарии обыкновенной вызывают изменения в функциональном состоянии клеток поджелудочной железы. У крыс с диабетом, вызванным аллоксаном, способность организма вырабатывать и выделять инсулин возросла одновременно с падением уровня глюкозы в крови. Было показано, что экстракт мякоти и семян *L. siceraria* обладает значительным антидиабетическим действием [116]. Тест на толерантность к оральной глюкозе использовался для оценки гипогликемических свойств различных глобулинов, извлеченных из самцов крыс Wistar, и он показал, что семена лагенарии обыкновенной содержат глобулины с высокой антигипергликемической активностью. В профиле была заметная белковая полоса с молекулярной массой 24,61 кДа, которая обладала значительным антигипергликемическим действием. Этот специфический белок, если он присутствует, скорее всего, является активным пептидом, ответственным за наблюдаемую активность [116]. У пациентов с дислипидемией были исследованы эффекты экстракта плодов *L. siceraria*. Было обнаружено, что уровень глюкозы в крови натощак был значительно ниже [116].

Различные *in vitro* подходы, такие как кинетика амилолиза и адсорбционная диффузионная способность глюкозы, использовались для оценки гипогликемической эффективности экстрактов фитоматериалов.

Подавление фермента (альфа-амилазы) лагенарии обыкновенной, который ограничивает преобразование крахмала в глюкозу, было признано причиной замедления диффузии глюкозы. Было показано, что экстракты *L. siceraria* обладают гипогликемическим действием в нескольких тестах *in vitro* и могут использоваться в качестве терапевтических средств при лечении диабета [116]. Наличие биоактивных молекул и ингибиторов амилазы и глюкозидазы, а также ферментов холинэргической эстеразы в этанольных и метанольных экстрактах лагенарии обыкновенной может объяснить обнаруженное превосходное противодиабетическое действие [116].

Некоторые эфиры жирных кислот были обнаружены в хлороформной фракции лагенарии обыкновенной, включая изопропилпальмитат, метиловый эфир 9,12-октадекадиеновой кислоты, метиловый эфир гексадекановой кислоты и метиловый эфир альфа-линоленовой кислоты. Способность *L. siceraria* снижать активность панкреатической липазы, уменьшая распад липидов и, следовательно, снижая поступление жира в организм, обусловлена этими химическими веществами. Поэтому регулярное употребление водного отвара плодов может быть предложено для снижения веса. Жирные кислоты и их эфиры действовали как ингибиторы липазы [148]. На мышах с ожирением, которым давали высокожирную диету, было исследовано синергическое воздействие *Commiphora Mukul* (смолы камеди) с экстрактами *L. siceraria* (плодов). После комбинированного лечения наблюдалось существенное снижение массы тела, триглицеридов, уровня ЛПОНП, уровня глюкозы в крови натощак, ЛПНП и холестерина в сыворотке, а также повышение уровня ЛПВП. Результаты показали, что сочетание *C. Mukul* и *L. siceraria* снижало ожирение, вызванное диетой с высоким содержанием жиров [148]. Было исследовано влияние экстракта плодов *L. siceraria* на пациентов с болезнями человека. Было отмечено значительное снижение индекса массы тела [148]. Ожирение у белых крыс Wistar было вызвано кормлением их диетой с высоким содержанием жиров и лечением диетой, содержащей лагенарии обыкновенной, наблюдалось

значительное снижение массы тела, двигательной активности, общего холестерина, потребления пищи, триглицеридов, веса органов и повышение уровней липопротеинов низкой и высокой плотности, что указывает на то, что лагенарии обыкновенной обладает потенциалом против ожирения. Водный экстракт включал многочисленные химические ингредиенты, такие как сапонины, пектин и эллаговая кислота, которые необходимы для снижения веса тела и уровня холестерина, согласно предварительной фитохимической оценке LS и TA. Плоды LS богаты сапонинами, кукурбитацинами В, G, D, H, тритерпеноидами и пектином, которые показали гиполипидемические свойства [148].

Различные экстракты лагенарии обыкновенной были протестированы на их антигиперлипидемические и гиполипидемические свойства у крыс с гиперлипидемией, вызванной Тритоном, а также их гиполипидемические эффекты у крыс с нормохолестеринемией. Экстракты снижали уровень общего холестерина, триглицеридов и липопротеинов низкой плотности в зависимости от дозы, при этом резко увеличивая уровень липопротеинов высокой плотности. Эффекты экстракта петролейного эфира были незначительными. По сравнению с другими, хлороформный и спиртовой экстракты оказали более существенное влияние на триглицериды, общий холестерин и липопротеины низкой плотности, а также увеличили ЛПВП [148].

Антигиперлипидемическая активность метанольного экстракта плодов лагенарии обыкновенной была протестирована на крысах с гиперлипидемией, вызванной диетой с высоким содержанием жиров. По сравнению с крысами, получавшими диету с высоким содержанием жиров, увеличение веса у крыс, получавших лагенарии обыкновенной, было меньшим. Кроме того, лагенарии обыкновенной вызвал значительное увеличение экскреции желчных кислот. Он может работать, влияя на выработку эндогенного холестерина в печени и усиливая экскрецию конечного продукта холестерина. Согласно фитохимическому анализу,

экстракт этого растения включает, флавоноиды, сапонины и стероиды, а также полифенолы, согласно предварительному фитохимическому скринингу. В нескольких исследованиях было показано, что растительные сапонины и стероиды обладают гиполипидемическими и антигиперлипидемическими свойствами [148]. Сок *L. siceraria* (бутылочная тыква) содержит все активные компоненты, которые подавляют накопление жира в жировой ткани. Противоожирительное действие сока *L. siceraria* (бутылочная тыква) было протестировано на людях с избыточным весом и ожирением. Вес, окружность талии и ИМТ значительно снизились у тех, кто употреблял сок бутылочной тыквы, что указывает на то, что это безопасный и эффективный вариант лечения для людей с ожирением [148]

Водный экстракт лагенария обыкновенной обладает сильным очищающим действием, а высокое содержание фенолов в плодах калабасы может помочь облегчить окислительный стресс, связанный с диабетом [132, 159, 161]. Антиоксидантная активность известна для фенолов и флавоноидов, которые обладают замечательной способностью очищать свободные радикалы, образующиеся в организме человека. Результате определения количества фенолов и флавоноидов в образце растения может помочь определить его антиоксидантную способность. Антиоксидантная способность плодоножек плодов лагенарии обыкновенной (*L. siceraria*) была исследована *in vitro*. Антиоксидантное действие метанолового экстракта надземных частей лагенария обыкновенной было приписано его высокому содержанию фенолов и флавоноидов [132, 159, 161]. Эксперименты *in vitro*, такие как анализ восстанавливающей способности, анализ удаления радикалов, анализ удаления супероксидов, анализ ингибирования перекисного окисления липидов и этилацетатный экстракт бутылочной тыквы, показали высокую антиоксидантную активность. Количество фенольных соединений, обнаруженных в экстрактах бутылочной тыквы, пропорционально их действию на удаления радикалов [132, 159, 161]. В изолированной модели сердца крысы антиоксидантная способность

экстракта измерялась с точки зрения глутатионпероксидазы (ГП), каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД), витамина С (Vit C), глутатионредуктазы (ГР), восстановленного глутатиона (ВСТ), витамина Е (Vit E) и глутатион-S-трансферазы (ГСТ). Активность антиоксидантов ферментов, таких как ГСТ, ГР и СОД, была значительно снижена у крыс, которым вводили изопротеренол. Можно определить, что этаноловый экстракт *L. siceraria* обладает антиоксидантным действием [132, 159, 161]. Экстракция семян этанолом привела к значительному количеству фитохимических веществ и антиоксидантной активности. Все эти фитохимические вещества являются мощными восстановителями, хелаторами металлов и поглотителями радикалов, и они могут быть виновниками высокой антиоксидантной активности семян. Были исследованы эффекты экстракта плодов *L. siceraria* у пациентов с дислипидемией. Антиоксидантный потенциал экстракта плодов лагенарии обыкновенной был продемонстрирован у пациентов с дислипидемией за счет повышения уровней супероксиддисмутазы и глутатиона [132, 159, 161].

Этаноловый экстракт обладает кардиопротекторным эффектом. Антиоксидантная функция плодов лагенарии обыкновенной, скорее всего, обусловлена его способностью бороться со свободными радикалами или его способностью поддерживать близкую к нормальной активность ферментов свободных радикалов, которые защищают сердечную мембрану от окислительного повреждения путем снижения перекисного окисления липидов [149].

Современные фармакологические исследования показали, что плоды *L. siceraria* обладают рядом кардиопротекторных свойств. У крыс с гиперлипидемией, вызванной тритоном, хлороформные и спиртовые экстракты лагенарии обыкновенной проявили антигиперлипидемический потенциал. При кардиотоксичности, вызванной доксорубицином и изопротеренолом у крыс, плоды продемонстрировали сильные кардиопротекторные свойства [149]. Отсутствие некроза сердца и

воспаления в группе, получавшей лагенарии обыкновенной, показало, что растение обладает кардиопротекторными свойствами. Антиоксиданты ориентин и изорентин, обнаруженные в порошке плодов лагенарии обыкновенной, по-видимому, помогают предотвратить некроз сердца и воспаление. В результате можно сделать вывод, что плоды лагенарии обыкновенной обладают кардиопротекторными свойствами. Сохраняя эндогенные антиоксиданты и снижая перекисное окисление липидов в сердце крысы, сок плодов лагенарии обыкновенной (Cucurbitaceae) снижает кардиотоксичность, вызванную доксорубицином, и снижает повреждение миокарда [149]. При инфаркте миокарда, вызванном изопротеренолом, были исследованы кардиопротекторные свойства сока плодов *L. siceraria*. Результаты показывают, что сок плодов *L. siceraria* оказывает кардиопротекторное действие у крыс с инфарктом миокарда, вызванным изопротеренолом. Присутствие полифенольных компонентов в плодах LS может быть причиной этих эффектов [149]. Тахикардия, вызванная изопреналином, уменьшалась при введении порошка плодов *L. siceraria*. Кардиотоксическое воздействие изопреналина уменьшалось у мышей, предварительно получавших LS. Кардиопротекторное действие LS при кардиотоксичности, вызванной изопреналином, по-видимому, усиливается его антиоксидантными и противовоспалительными свойствами [149].

1.4. Некоторые аспекты гепатопротекторного действия лагенарии обыкновенной

Оценка гепатопротекторной активности экстракта плодов *Lagenaria siceraria* в углерода (CCl_4), индуцированная гепатотоксичность, была исследована на печени экспериментальных животных - крысах. Гепатотоксичность индуцировали у самцов крыс линии Вистар путем внутрибрюшинной инъекции CCl_4 в дозе 1 мл / кг в день в течение 7 дней. Этаноловый экстракт плодов *Lagenaria siceraria* и высушенный под вакуумом экстракт сока *Lagenaria siceraria* вводили экспериментальным крысам по 400 мг / кг в день перорально в течение 10 дней. Гепатопротекторный эффект

полученных экстрактов Лагенарии оценивали путем анализа биохимических показателей функции печени: общий билирубин, сывороточный белок, количественной оценкой индикаторных ферментов (Аспаратаминотрансфераза, и Аланинаминотрансфераза) и экскреторных (Щелочной фосфатазы), массы печени и гистопатологического исследования ее поренхимы. У группы животных, получавших этаноловый экстракт LS, по сравнению с группами получавшими силимарин в стандартном режиме, токсической эффект CCl_4 в значительной степени контролировался восстановлением уровней билирубина, белка и ферментов в сыворотке крови. Гистология срезов печени животных, которым вводили экстракт Лагенарии, показали наличие нормальных печеночных канатиков, отсутствие некроза и жировых отложений и инфильтрации ткани, что дополнительно свидетельствует о гепатопротекторной активности. Можно констатировать, что этаноловый экстракт лагенарии обыкновенной и экстракт сока лагенарии обыкновенной обладают значительной гепатопротекторной активностью [103].

«Печень — жизненно важный орган, играющий важную роль в поддержании различных биохимических и физиологических процессов в организме. Он участвует во многих важных функциях, таких как обмен веществ, секреция и хранение. Он играет важную роль в детоксикации и выведении многих экзогенных и эндогенных соединений. Таким образом, любое повреждение или нарушение функции имеет серьезные последствия для здоровья пострадавшего человека. Сообщается, что ежегодно от цирроза печени, вызванного гепатитом, умирает около 18 000 человек, хотя вирусные инфекции являются одной из основных причин поражения печени. Он действует как резервуар для хранения различных белков, гликогена, витаминов и минералов. Он также играет роль в регуляции объема крови, транспортируя кровь из воротной вены в системный кровоток и эндотелиальную ретикулярную систему, а также участвует в иммунном механизме. Человеческий организм распознает почти все лекарственные

препараты как чужеродные вещества (т. е. ксенобиотики) и подвергает их различным химическим процессам (например, метаболизму), чтобы сделать их пригодными для выведения. Сюда входит химическая модификация для (1) снижения растворимости липидов и (2) изменения биологической активности. Хотя почти все ткани организма обладают некоторой способностью метаболизировать химические вещества, гладкий эндоплазматический ретикулум в печени является основным «метаболическим центром обмена веществ» как для эндогенных (например, холестерина, стероидных гормонов, жирных кислот и белков), так и для экзогенных (например, лекарств) химических веществ). Ключевая роль, которую печень играет в очистке и метаболизме химических веществ, также делает ее восприимчивой к лекарственным препаратам» [175].

«Гепатит — воспаление печени, характеризующееся наличием воспалительных клеток в тканях органа. Существует пять основных вирусов, называемых типами А, В, С, D и Е. Эти пять вызывают наибольшую озабоченность из-за бремени заболеваемости и смертности. Заболевание может быть самоизлечивающимся (излечиться само по себе) или может прогрессировать до фиброза (рубцевания) и цирроза. Гепатит может протекать с ограниченными симптомами или бессимптомно, но часто вызывает желтуху, анорексию (плохой аппетит) и вялость. Гепатит считается острым, если он длится менее 6 месяцев, и хроническим, если сохраняется дольше. проблемы с печенью, в том числе паразиты и вирусные инфекции; аутоиммунные заболевания; и интоксикация различными ксенобиотиками, такими как алкоголь, фототерапия, наркотики, хлорированные растворители, пероксидные кислоты, грибковые токсины, промышленные загрязнители и радиоизотопы. В частности, типы А и С вызывают хронические заболевания у сотен миллионов людей и вместе являются наиболее распространенными причинами цирроза и рака печени» [175].

Растительные препараты по сравнению с синтетическими, считаются менее токсичными и практически не имеющими побочных эффектов. В

гепатологии хорошо известен гепатопротекторный эффект таких лекарственных растений, как: *Andrographis paniculata*, *Boerhaavia diffusa* [145] *Hibiscus rosasinensis* [150], *Phyllanthus amarus* [112] хорошо известны в клинике их гепатопротекторные эффекты.

Растение лагенарии обыкновенной, произрастает на все территории Индии. С незапамятных времен плод используется как мочегонное, кардиотоническое, кардиозащитное и питательное средство. Сообщается также, что оно является хорошим источником комплекса витаминов В, холина, витамина С и β -каротина. Также, оно содержит кукурбитацины, и полифенолы [96, 97, 128, 136]. Лагенарии обыкновенной обладает антиоксидантной активностью [125], гиполипидемическим и антигиперлипидемическим действием у крыс с нормохолестеринемией и тритон-индуцированной гиперлипидемией [115]. ВЭЖХ анализ метанольного экстракта из плодов данного растения показывает присутствие флавоновых С – гликозидов [111], белка леганина, который был выделен из лиофилизированного экстракта семян [160].

В обзоре литературы указано, что гепатопротекторная активность этого вида до сих пор обширно не исследована клинически. Для лечения гепатита нужен активный и безопасный препарат. В связи с этим, настоящее исследование было направлено на оценку гепатопротекторной активности плодов лагенарии обыкновенной против гепатотоксичности, вызванной тетрахлоридом углерода (CCl_4) у крыс-альбиносов.

Тетрахлорметан использовался в качестве средства для индукции гепатотоксичности у экспериментальных животных. Это токсичное химическое вещество вызвало перекисное разложение в жировой ткани, что привело к образованию жировой ткани и инфильтрации гепатоцитов. Увеличение трансаминаз и щелочной фосфатазы было значительным, что четко указывало на утечку клеток и потерю функциональной целостности клеточной мембраны [140]. Повышение уровня билирубина в сыворотке крови отражало выраженность желтухи [131]. Тетрахлорид углерода,

который является внутренним гепатотоксином, был использован для того, чтобы вызвать экспериментальное повреждение печени при этом исследовании, поскольку ранее было показано, что он оказывает токсическое действие на печень [130]. Введение CCl_4 вызывает серьезное повреждение печени крыс. Этот ущерб признан увеличением сывороточных уровней печеночных ферментов (глутаминовая щавелевоуксусная трансаминаза и глутамино-пировиноградная трансаминаза), которые являются показателями повреждения клеток печени [157]. Биохимические механизмы, участвующие в развитии гепатотоксичности CCl_4 давно исследованы. Обычно считается, что это связано с перекисным окислением липидов, вызванным: углеродным трихлорметильным радикалом $\text{CCl}_3\cdot$. CCl_4 биотрансформируется цитохромом P-450 в свободный трихлорметил-радикал, который вызывает перекисное окисление липидов мембран гепатоцитов и нарушает обмен Ca^{2+} в гомеостазе, вызывающий гепатоцеллюлярное повреждение [146]. Применение экстрактов показало значительную гепатопротекторную активность, которая была сопоставима со стандартным препаратом силимарин. Известно, что SGOT может быть обнаружен в печени, сердечной мышце, почках, головном мозге, поджелудочной железе, легких, скелетных мышцах, лейкоцитах и эритроцитах (в порядке убывания концентрации) [143]. Глутамино-пировиноградная трансаминаза присутствует в наибольшей концентрации в печени. В тканях обмен ГПТ происходит двумя способами локализации, цитозоль и митохондрии [147]. ГПТ кажется более чувствительным и специфическим показателем острого гепатоцеллюлярного повреждения, чем глутаминовая щавелевоуксусная трансаминаза [130]. Следовательно, гепатопротекторный механизм экстрактов *Lagenaria siceraria* на CCl_4 -индуцированную печень может связан с ингибированием активности цитохрома P-450, предотвращение процесса перекисного окисления липидов, стабилизацией гепатоцеллюлярной мембраны и усиление синтеза белка [141].

«Сбор и анализ отечественной и зарубежной литературы показали, что биологически активные вещества, содержащиеся в лагенарии обыкновенной, обладают широким терапевтическим действием, что позволяет рассматривать это растение как перспективный источник препаратов для профилактики и лечения патологий печени».

«Представленные в литературе данные показывают, что химический состав мякоти *Lagenaria siceraria*, произрастающей на территории Республики Таджикистан, недостаточно изучен, а состав ее биологически активных веществ обладает широким спектром фармакологического действия».

«Растение *Lagenaria siceraria* широко используется в нашей народной медицине и официальной медицине зарубежных стран, что позволяет готовить из *Lagenaria siceraria* биологически активные добавки с целью расширения разнообразия и внедрения новых видов лекарственного растительного сырья».

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Материалом исследований служила мякоть плодов лагенарии обыкновенной, выращенной на опытном участке Центра инновационной биологии и медицины НАНТ. Согласно описанию, в IX-ом томе Флоры Таджикистана, лагенария является однолетним растением с вьющимися или лежачими стеблями, мягко опущенными, обладающим мускусным запахом. Стебель лианы, может достигать длины до 10 – 15 м, листья гофрированные, пятиугольные, цветки мелкие, белые, трубчатые, одиночные с колесообразным венчиком, располагаются в пазухах листьев, причем цветки раскрываются только ночью. Плод – тыква, как и у других представителей семейства тыквенных. Форма плода у разных видов и подвидов Лагенарии различна. Встречаются плоды разнообразной формы вытянутые, круглые, грушевидные, бутылковидные и др. Родиной лагенарии является Южная Америка. Культивируется она во всех теплых зонах земного шара, в том числе в Таджикистане [80]. Настойка разработана нами на основе мякоти лагенарии обыкновенной и приготовлена на 30%-ом спирте при соотношении 1:10 [4, 58, 31]. Для проведения фармакологических экспериментальных исследований были использованы беспородные крысы (150 – 220гр.), в количестве 120 особей, белые мыши в количестве 60 особей средней массой тела 18 – 22г.

Содержание экспериментальных животных соответствовало правилам лабораторной практики доклинических исследований (по ГОСТ № 51000.3-96- 51000.4-2008 при соблюдении Международной рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных)

Способы извлечения биологически активных веществ из частей лагенарии обыкновенной

Способ извлечения средства состоит из двух этапов. На первом этапе проводят экстракцию биологически активных соединений мякоти плода

Лагенарии обыкновенной примеры 1 и 2. Затем на втором этапе из сухого остатка отвара и экстракта мякоти лагенарии был получен раствор.

Пример 1. 100,0 г воздушно – сухую и измельченную до размера 2-3 мм мякоть плода Лагенарии помещают в круглодонную колбу на 3л с обратным холодильником и заливают 1000,0 мл дистиллированной воды. Далее настаивают на кипящей водяной бане в интервале температур 70-80° С в течение 3 ч, оставляют до комнатной температуры, процеживают через трехслойную марлю и получают 765,0 мл отвара.

Пример 2. К остатку ингредиента (жом) в колбе заливают 1000,0 мл 30% - ного водно – спиртового раствора и нагревают на кипящей водяной бане в течении 3 ч. После охлаждения процеживают через трехслойную марлю и получают 854,0 мл экстракта. Полученный отвар и экстракт объединяют, фильтруют через бумажный фильтр. Объединённые фильтраты перегоняют на роторном вакуумном испарителе при температуре 60-70° С и при вакууме 100-200 мм рт. ст. до сухого остатка. Для проведения эксперимента на животных, сухой остаток растворяли в дистиллированной воде в соотношение 1:10.

2.2. Выход суммы экстрактивных веществ лагенарии обыкновенной

Для экстракции мякоти плодов Лагенарии были использованы этиловый спирт, ацетон и вода.

Исследование проведено известными методами определения суммы экстрактивных веществ согласно литературе [29]. Влажность высушенной и измельченной мякоти составила 8,67%. Затем пропускали сырье через сито размером отверстий 1-7 мм. По одному грамму исследуемого объекта помещали в 9 конических колбах для экстрагирования. С осторожностью, по 50мл этанола с концентрацией 10%, 20%, 30%, 40%,50%,60% ,70%, 80%, 90% соответственно, добавили по стенкам каждой колбы так, чтобы отдельные частицы сырья не остались на их стенках. После настаивания в течение часа, колбы присоединили к обратному холодильнику и

нагревали, поддерживая слабое кипение в течение 2 часов. Их содержимое хорошо взболтали и профильтровали с помощью бумажного фильтра. По 25 мл фильтрата из каждой колбы пипеткой переносили в точно взвешенные фарфоровые чашки и выпарили его на водяной бане до постоянной массы. Затем в эксикаторе, на дне которого находился безводный хлорид кальция, охлаждали чашки в течение 30 минут. Выход суммы экстрактивных веществ, для каждой из 9 проб вычисляли по формуле:

$$X = (m \cdot 100 \cdot 100 \cdot V) / (a \cdot (100 - W) \cdot 25)$$

где

m – масса сухого остатка, Г;

a – навеска лекарственного растительного сырья, г;

V – объем экстрагента, используемый при однократной обработке лекарственного сырья/ препарата, мл,

W – влажность лекарственного растительного сырья, %.

Измерение pH проводилось на приборе pH – метр марки **METLER TOLEDO**

Методика определения показателя преломления (рефрактометрия) в лекарственном растительном сырье.

Показателем преломления (n) называют отношение скорости распространения света в вакууме к скорости распространения света в испытуемом веществе. Это абсолютный показатель преломления. На практике определяют так называемый относительный показатель преломления, т.е. отношение скорости распространения света в воздухе к скорости распространения света в испытуемом веществе.

Показатель преломления зависит от температуры и длины волны света, при которой проводят определение. В растворах показатель преломления зависит также от концентрации вещества и природы растворителя. Рефрактометрия применяется для установления

подлинности и чистоты вещества. Метод применяют также для определения концентрации вещества в растворе, которую находят по графику зависимости показателя преломления от концентрации. На графике выбирают интервал концентраций, в котором соблюдается линейная зависимость между коэффициентом преломления и концентрацией. В этом интервале концентрацию можно вычислить по формуле:

$$X = n - n_0 / F$$

где X – концентрация раствора; n- показатель преломления раствора; n_0 – показатель преломления растворителя при той же температуре; F – фактор, равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1% (устанавливается экспериментально) [29].

Приборы, применяемые для определения показателя преломления, называются рефрактометрами. Определение проводится при температуре $(20 \pm 0,3)$ °C и длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм). Показатель преломления, определенный при таких условиях, обозначается индексом $n_D 20$.

2.3. Методы качественного анализа биологически активных веществ

Исследование проведено известными методами определения качественного анализа биологически активных веществ согласно литературе [29]

Основные реактивы для проведения качественной реакции на алкалоиды.

Реактив Майера: 1,4 г Hg CL₂ растворяют в 60 мл воды, приливают раствор 5г йодида калия (KJ) в 10 мл воды и общий объем доводят водой до 100 мл.

Реактив Вагнера 1,3 г йода растворяют в 100 мл раствора 2 г йодида калия (KJ) в воде.

Реактив Драгендорфа: Раствор 1 – 0,85г нитрата висмута основного растворяют в 40 мл воды и добавляют 10 мл уксусной кислоты: раствор 2 – 20гр йодида калия растворяют в 50 мл воды. Смешивают равные объемы растворов 1и2. К 10 мл полученной смеси добавляют 100мл воды и 20 мл уксусной кислоты (Н.И. Гринкевич и соавт. 1983).

Реактив КВК (кремневольфрамовая кислота); 1 гр кремневольфрамовой кислоты растворяют в 100мл дистиллированной воды и фильтруют.

Раствор пикриновой кислоты: 1,0 гр пикриновой кислоты растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

Обнаружение алкалоидов в спиртовой настойке в состав лагенарии обыкновенной.

1. В пробирку настойки 1 мл добавили несколько капель 1% - ного HCL для подкисления, а затем 0,1 – 0,2 мл реактив Вагнера и Бушарда образовался бурый осадок.

2. к 1 мл подкисленной настойки добавили несколько капель реактив Драгендорфа образуется оранжево – красный осадок.

3. к 1 мл подкисленной настойки добавили 0,5 мл 1%- ной кремневольфрамовой кислоты образовалась белый осадок.

4. к 1 мл подкисленному раствору настойки добавили 1% раствор пикриновой кислоты образовалась желтый осадок (Н.И. Гринкевич и соавт. 1983). (Гринкевич и др. 1983).

Основные реактивы для проведения качественных реакций на флавоноиды в состав лагенарии обыкновенной.

Цианидиновая проба (проба Хинодди)

К 2 мл извлеченной настойки добавляют 5 – 7 капель концентрированной HCL и 10 –15 мг металлического Mg или Zn, через 3 – 5 мин наблюдается красное или розовое окрашивание это положительное реакция на флавоноиды.

Реакция с раствором основного ацетата свинца. К 1 мл извлечения добавляют 3 – 5 капель 2% - ного основного ацетата свинца. Появление желто – оранжевого окрашивания свидетельствует о наличие флавоноидов (Гринкевич и др. 1983).

Обнаружение флавоноидов в спиртовой настойки в состав лагенарии обыкновенной.

К 2 мл настойки добавляют 5 – 7 капель концентрированной соляной кислоты и 10 – 15 мг металлического магния или цинка, через 5 – 10 мин наблюдается красное окрашивание. Для ускорения реакции и усиление окраски подогревают на водяной бане. (Цианидиновая проба).

Реакция с раствором 2% - ного основного ацетата свинца. К 2 мл настойки астрагала добавляют 3 -5 капель основной свинца появляются желто – оранжевое окраска раствора (Гринкевич и др. 1983).

Определение гликозидов в лекарственном растительном сырье.

Реакции на гликозиды

Для определения гликозидов получают сухой остаток из настойки

- Реакция Келлер – Килиани. Готовят два раствора:

А) ледяная уксусная кислота, содержащая следы $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$

Б) концентрированная серная кислота со следами $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в растворе А и осторожно по стенке пробирки вливают раствор В. При наличии дезоксисахара верхний слой через несколько время окрасится в васильково – синий цвет.

2. Реакция Розенгейма. Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в хлороформе и смешивают с 90% - ным водным раствором трихлоруксусной кислоты. Появляются сменяющие друг друга окраски от розовой до лиловой и интенсивно синей.

3. Реакция Легалья. Готовят два раствора: 1 -5 % - ный раствор нитропрусида натрия; 2 – 10 – ный раствор едкого натра. Сухой остаток очищенного извлечения растворяют в 0,5 мл 100% - ного метилового

спирта. Полученный раствор вливают в пробирку и добавляют 1 – 2 капли раствора 1. Затем осторожно (не взбалтывая) по стенке добавляют 1 – 2 капли раствора 2. На границе 2х растворов появляется красное окрашивание в виде кольца (Гринкевич и др. 1983).

Определение сапонинов в лекарственном растительном сырье лагенарии обыкновенной.

Реакции на Сапонины

- Реакция на пенообразование. Берут две пробирки, одну приливают 0,1 мл HCL, а в другую – 5 мл 0,1 н Na OH. Затем в обе пробирки добавляют по 2-3 капли извлечения и сильно встряхивают. При наличии в сырье тритерпеновых сапонинов в обеих пробирках образуется пена по объему и стойкости. Если сырье содержит сапонины стероидной группы, то в щелочной среде образуется пена в несколько раз больше по объему и с той кисти.
- К 2 мл водного настоя в пробирке прибавляют несколько капель ацетата свинца. Образуется осадок.
- К 1 мл спиртового раствора настойки прибавляют несколько капель 15% – ного спиртового раствора холестерина. Образуется осадок.

Реакция Лафона. К 2 мл водного настоя прибавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 1 мл этилового спирта и 1 капли 10%- ного раствора сернокислого железа. При нагревании появляется сине – зеленое окрашивание.

К 2мл водного настоя прибавляют 1 мл 10 % - ного раствора нитрата натрия и 1 каплю концентрированной серной кислоты. Появляется кроваво – красное окрашивание (Гринкевич и др. 1983).

Определение дубильных веществ в лекарственном растительном сырье лагенарии обыкновенной.

Реакции на дубильные вещества

К 2-3 мл настойки добавляют по каплям 1% - ный раствор желатины. Появляется муть, исчезающая при добавление избытка желатины.

К 2 – 3 мл настойки 4 -5 капель раствора железо – аммониевых квасцов в случае гидролизуемых дубильных веществ появляется черно – синее окрашивание или осадок, а конденсированных - черно – зеленое окрашивание или осадок.

К 2 -3 мл настойки прибавляют несколько капель 1 % - ного хлорида хинина (антипирина). Появляется аморфный осадок.

К 10 мл настойки прибавляют 5 мл смеси (2 мл HCL, разведенный в соотношении 1:1 и 3 мл 40% ного раствора формалдегида). Полученную смесь кипятят 30 мин в колбе, снабженной обратным холодильником. При наличии конденсированных дубильных веществ они выпадают в осадок. Осадок отфильтровывают. К 2 мл фильтрата добавляют 10 – капель 1%-ных железоаммониевых квасцов и около 0,2гр кристаллического ацетата свинца, раствор перемешивают. В случае наличия гидролизуемых дубильных веществ появляется синее или фиолетовое окрашивание, в нейтральной среде.

К 2 – 3 мл настойки прибавляют по каплям бромную воду (5 гр брома в 1 л воды) до того момента, когда в жидкости станет ощущаться запах брома. При наличии конденсированных дубильных веществ сразу образуется осадок.

К 2 мл настойки прибавляют несколько кристаллов NaNO_3 и 2 капли 0,1 н HCL. При наличии гидролизуемых дубильных веществ появляется коричневое окрашивание (Гринкевич и др. 1983).

Определение кумаринов в лекарственном растительном сырье лагенарии обыкновенной.

Реакции на кумарины

- К 3 – 5 мл спиртового извлечения прибавляют 10 – капель 10% - ного КОН в метиловом спирте и нагревают в течение 5 мин на водяной бане (при наличие кумаринов раствор желтеет), затем прибавляют 5 капель свежеприготовленного диазореактива Паули по Кутачеку. При наличии кумаринов раствор приобретает окрашивание от коричнево – красного до вишневого.
- К 3 – 5 мл спиртового извлечения прибавляют 10 – капель 10% - ного КОН в метиловом спирте, раствор нагревают на водяной бане. Затем добавляют 5 – 10 мл дистиллированной воды и хорошо перемешивают, после чего раствор нейтрализуют 10% - ным HCL до кислой реакции. Если при этом наблюдается помутнение или выпадение осадка, то это указывает на присутствие кумарина в настойке (лактонная проба) (Гринкевич и др. 1983).

2.4. Методика количественного определения суммы флавоноидов мякоти плодов лагенарии обыкновенной

Раствор СО рутина. Около 0,05 г (точная навеска) рутина, предварительно высушенного при 130 - 135. °С в течение 3 ч, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и растворяют при нагревании на кипящей водяной бане в 85 мл спирта 96 %, охлаждают, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор А СО рутина). 1 мл раствора А СО рутина. 4 мл алюминия хлорида спиртового раствора 2 % и 1 каплю уксусной кислоты разведенной до 30 %, помещенных в мерную колбу вместимостью 25 мл доведенных спиртом 96 % до метки (раствор Б СО рутина).

Аналитическую пробу сырья измельчают до величины частиц, проходящих через сито с отверстиями размером 7 мм. Около 1,0 г (точная

навеска) измельченного сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 60 мл спирта 70 %. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Горячее извлечение фильтруют через бумажный складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 100 мл. После охлаждения фильтр промывают 40 мл спирта 70 %, объем извлечения доводят до метки и перемешивают (раствор А испытуемого раствора).

5 мл раствора А испытуемого раствора, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 4 мл 2 % - го спиртового раствора хлорида алюминия, 30 % разведенной, 1 каплю уксусной кислоты доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют через 30 мин на спектрофотометре при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А испытуемого раствора и 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 % доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО рутина в таких же условиях. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2 мл раствора А СО рутина, 1 капли уксусной кислоты разведенной 30 %, доведенный спиртом 96 % до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл.

Далее анализ осуществляют в соответствии с методикой, описанной в литературе [29].

Содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в абсолютно сухом сырье в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot a_o \cdot 2 \cdot 100 \cdot 25 \cdot P \cdot 100 \cdot 100}{A_o \cdot 100 \cdot 25 \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot (100 - W)} = \frac{A \cdot a_o \cdot P \cdot 40}{A_o \cdot a \cdot (100 - W)}$$

Где А- оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

А0 - оптическая плотность раствора Б СО рутина:

а - навеска сырья, г;

а0 - навеска СО рутина, г;

Р - содержание основного вещества в СО рутина, %;

W—влажность сырья, %.

2.5. Определение острой токсичности настойки лагенарии обыкновенной по методу Кербера: $LD_{50} = LD_{100} \sum(zd)/m$,

Определение острой токсичности исследуемых извлечений проводили согласно методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических веществ [144]. На базе Научно-исследовательского ветеринарного института (НИВИ) нами проведены работы по изучению токсикологического действия 30% - ной спиртовой настойки из мякоти лагенарии. Предварительно 30% - ную спиртовую настойку мякоти лагенарии обыкновенной упаривали и остаток растворяли в дистиллированной воде в соотношении 1:10.

Животных выдерживали на карантине в течение 14 суток до постановки эксперимента. Исследования острой токсичности проводили на беспородных мышах обоего пола массой 20-22 г. Животные были разделены на 3 группы по 6 особей в каждой.

Мышам I группы внутрижелудочном введении через зонд исследуемых 1 мл настойки мякоти плодов лагенарии, что соответствует дозе 5000 мг/кг.

Мышам 2 группы вводили внутрижелудочно 0,8 мл, что соответствует дозе 4000 мг/кг. Мышам 3 группы вводили внутрижелудочно 0,4 мл, что соответствует дозе 2000 мг/кг.

2.6. Методика изучения противовирусного действия настойки лагенарии обыкновенной при экспериментальном вирусном гепатите В

Одним из современных методов вирусологического анализа является полимеразная цепная реакция. Уровень ДНК вируса гепатита В определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР -Rede Time Mini Opticon США, фирмы (Bio Rad).

Характеристика эксперимента

Эксперименты были проведены на 40 беспородных белых мышах обоего пола весом 18-22 г. Животные были распределены на следующие серии:

1 – интактные; 2 – контрольные животные, которым подкожно вводили HBV (сыворотки больных с высоким титром антител HBV) из расчета 0.2мл / на 20 грамм массы животных 1 раз в течение 3 месяцев содержащихся в отдельном виварии; 3 – группа мышей, которым наряду с HBV ежедневно в течение 2 месяцев внутрижелудочно (в/ж) вводили настойку лагенарии в дозе 0,5 мл (100 мг/кг массы). 4 – группа; мыши, которым наряду с HBV ежедневно в течение 2 месяцев внутрежелудочно вводили настойку лагенарии в дозе 1 мл 100 мг/кг массы.

2.7. Методика оценки гепатопротекторного действия экстракт лагенарии обыкновенной при экспериментальном токсическом гепатите CCl_4

В качестве экспериментальной модели токсического поражения печени был выбран четырёххлористый углерод (CCl_4), который считается признанным и всесторонне изученным гепатотоксином (Арчаков, 1978).

Животные были распределены на следующие группы: 1 группа – здоровые или интактные получавшие дистиллированную воду из расчёта 5 мл/кг веса; 2 – контрольная группа (нелеченные) животные, которым внутрижелудочно вводили CCl_4 из расчета 2 мл/кг массы через сутки, в течении 14 суток; 3- группа крыс, которым наряду с CCl_4 ежесуточно в

течении 14 суток внутривенно (в/в) вводили растворенный дистиллированной водой сухой экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы; 4 группа – крысы, с острой интоксикацией CCl_4 , принимавших терапию по той же схеме препаратом «Карсил» в дозе 50 мг/кг.

2.8. Биохимические методы исследования, использованные в работе

У животных всех опытных групп определяли в сыворотке крови активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), концентрацию общего билирубина и его фракций, холестерина. Определение всех биохимических показателей крови выполнялось на автоматическом биохимическом анализаторе (STAT FAXC) с использованием стандартных наборов жидких реактивов фирмы «Vital » (Россия).

2.8.1. Определение активности аланинаминотрансферазы в сыворотке крови

Активность аланинаминотрансферазы (АлАт) в сыворотке крови определяли методом Reitman S. и Frankel S. [44] с использованием набора реактивов фирмы «Vital » (Россия). Определение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови данный метод основан на том, что в результате реакции трансаминирования между L-аланином и α -кетоглутаратом, протекающей под действием АЛТ, образуются L-глутамат и пировиноградная кислота (ПВК). При добавлении в реакционную смесь 2,4-динитрофенилгидразина образуются гидразоны пировиноградной кислоты, которые в щелочной среде дают окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству образовавшейся кислоты и активности АЛТ. Активность АЛТ выражали в U/л ($1 \text{ U/л} = 16,67 \text{ нмоль/с л}$), где с – секунда; л – литр

2.8.2. Определение активности аспаратаминотрансферазы в сыворотке крови

Активность аланинаминотрансферазы (АсАт) в сыворотке крови определяли методом Reitman S. и Frankel S. [44] с использованием набора реактивов фирмы «Vital » (Россия). Принцип данного метода основан на реакции трансаминирования между L-аспаратом и α -кетоглутаратом, протекающей под действием аспаратаминотрансферазы (АсАТ), в результате которой образуются L-глутамат и оксалоацетат, который подвергается декарбоксилированию с образованием пировиноградной кислоты. При добавлении в реакционную смесь раствора 2,4-динитрофенилгидразина образуются гидразоны оксалоацетата и пировиноградной кислоты, которые в щелочной среде дают окрашивание, интенсивность которого пропорциональна количеству образовавшихся кислот и активности АсАТ. Активность АсАТ выражали в U/л ($1 \text{ U/л} = 16,67 \text{ нмоль/(с л)}$), где с – секунда; л – литр.

2.8.3. Определение содержания общего билирубина в сыворотке крови

Содержание общего билирубина (ОБР) в сыворотке крови определяли методом Йендрашика, Клеггорт, Гроф [64] с использованием набора реактивов фирмы «Vital » (Россия). Метод определения концентрации общего билирубина основан на реакции с диазотированной сульфаниловой кислотой, после диссоциации неконъюгированного (непрямого, свободного) билирубина при участии кофеинового реагента. Определение содержания конъюгированного (прямого, связанного) билирубина проводится таким же образом, но из реакционной смеси исключается кофеиновый реагент. Содержание неконъюгированного билирубина рассчитывается по разнице концентраций между общим и конъюгированным билирубином. Полученные результаты выражали в мкмоль/л сыворотки крови [64].

2.8.4. Определение содержания общего холестерина в сыворотке крови

Содержание общего холестерина (ХС) в сыворотке крови определяли энзиматический [73] при использовании набора реактивов фирмы «Vital» (Россия). Определение содержания общего холестерина (ОХС) в сыворотке крови энзиматическим колориметрическим методом. Данный метод основывается на реакции гидролиза эфиров холестерина (ЭХС) холестеринэстеразой с образованием неэтерифицированного холестерина (НЭХС). Образовавшийся в результате гидролиза и имеющийся в пробе НЭХС под действием холестеролоксидазы окисляется кислородом воздуха с образованием эквимольного количества перекиси водорода, которая под действием пероксидазы окисляет хромогенные субстраты с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски продукта, определяемая фотоэлектроколориметрически, пропорциональна концентрации содержания общего холестерина (ОХС) в исследуемой пробе сыворотки крови. Результаты исследования выражали в ммоль/л сыворотки крови [73].

2.8.5. Определение содержания триглицеридов в сыворотке крови

Содержание триглицеридов (ТАГ) в сыворотке крови определяли по методу Готфрида и Розенберга [73] с использованием набора реактивов фирмы «Vital» (Россия). Принцип метода заключается в следующем: глицерин, выделяющийся в результате щелочного гидролиза ТАГ, окисляется до формальдегида с помощью метапериодата натрия. Образующийся формальдегид дает ацетилацетон 3,5-диацетил-1,4 дигидролутидин, интенсивность цвета это пропорционально содержанию триглицеридов. Результаты выражаются в ммоль/л.

2.8.6. Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови

Активность щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови определяли методом Bessey O.A., Lowry O.H., Brock M.I. [64] с помощью набора реактивов фирмы «Vital» (Россия). Принцип метода основывается на определении количества п-нитрофенола, образовавшегося в результате энзиматического расщепления п-нитрофенилфосфата. Паранитрофенол в щелочной среде дает желтое окрашивание, интенсивность окраски фотометрируемого раствора которого пропорциональна активности щелочной фосфатазы (ЩФ). Активность ЩФ выражается в U/л ($1 \text{ U/л} = 16,67 \text{ нмоль/с л}$), где с – секунда; л – литр [64].

2.8.7. Определение содержания общего белка в сыворотке крови

Содержание общего белка (ОБ) в сыворотке крови определяли биуретовым методом [73] с помощью набора реактивов фирмы «Vital» (Россия). Принцип метода основан на переходе исходного оранжевого цвета красителя Кумасси G-250 при связывании с белком в синий. При этом максимум поглощения при фотоколориметрировании реакционной смеси изменяется соответственно с 465 нм на 595 нм. Результаты исследования содержания общего белка в сыворотке крови выражали в граммах белка на 1 л сыворотки крови [64].

2.8.8. Определение содержания альбумина

Определение содержания альбумина в сыворотке крови. Метод основан на избирательной способности альбумина образовывать окрашенный комплекс с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента. Результаты определения выражали в г/л сыворотки крови [64].

2.8.9. Определение концентрации глюкозы крови

Определение концентрации глюкозы в сыворотке крови энзиматическим колориметрическим методом. Принцип метода основан

на реакции окисления β -D-глюкозы под действием глюкозооксидазы кислородом воздуха, образующееся при этом эквимольное количество перекиси водорода, которая окисляет хромогенные субстраты под действием фермента энзимапероксидазы с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски образовавшегося продукта реакции прямо пропорциональна концентрации глюкозы в пробе сыворотки крови. Полученные результаты выражали в ммоль/л сыворотки крови [64].

2.8.10. Определение концентрации мочевины

Мочевина образца, благодаря сопряженным реакциям, описанным ниже, взаимодействует с NADH, оптическая плотность на 340 нм которого может быть измерена спектрофотометрически [64].

Мочевина + H₂O уреаза 2NH₄ + CO₂ глутаматдегидрогеназа 2-оксоглутарат Глутамат H₂O 2NH₄ + CO₂ NH₄ + NADH + NAD + 2H

2.8.11. Определение концентрации креатинина.

Креатинин пробы крови реагирует с пикратом в щелочной среде с образованием окрашенного комплекса. Скорость образования цветного комплекса измеряется за короткий промежуток времени для того, чтобы избежать интерференции. Изменение оптической плотности при 505 нм образующегося комплекса пропорционально концентрации креатинина в пробе [64].

Креатинин свободно фильтруется через клубочки (небольшие количества реабсорбируются и также секретируются почечными канальцами). Измерение креатинина используется почти исключительно в оценке функции почек (замедленная почечная перфузия, нарушение функционирования нефронов) и в мониторинге почечного диализа [64].

Статистическая обработка полученных результатов

Статическую обработку производили по Стьюденту (Ойвин, 1962).

Результаты экспериментов обработаны с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента с определением среднего

арифметического значения M и его стандартной ошибки m . Анализ данных выполнен с использованием программы Statistica 5.0 for Windows.

ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Определение содержания экстрактивных веществ в растительном сырье лагенарии обыкновенной

Количество экстрактивных веществ в лекарственных растениях является одной из важных характеристик, которые определяют качество и эффективность экстракта. Следует отметить, что процесс экстрактирования зависит от ряда факторов и среди них можно выделить размер сырья, время экстракции и температуру экстракции, которые можно объединить в технологические факторы. Технологические факторы обуславливают как выявление содержания экстрактивных веществ из лагенарии, так и поиск наиболее оптимального способа экстрагирования» [4, 5].

В связи с этим, нами проведено исследование по определению экстрагента, максимально извлекающего комплекс БАВ из Лагенарии обыкновенной. Для этого использовали различные концентрации (10, 20, 30, 40, 50 60, 70, 80% и 90%) этилового спирта, 50% водный ацетон и воду (рис .1, 2). Параллельно была определена влажность внутренней части плода лагенарии (мякоти), которая составила 10%.

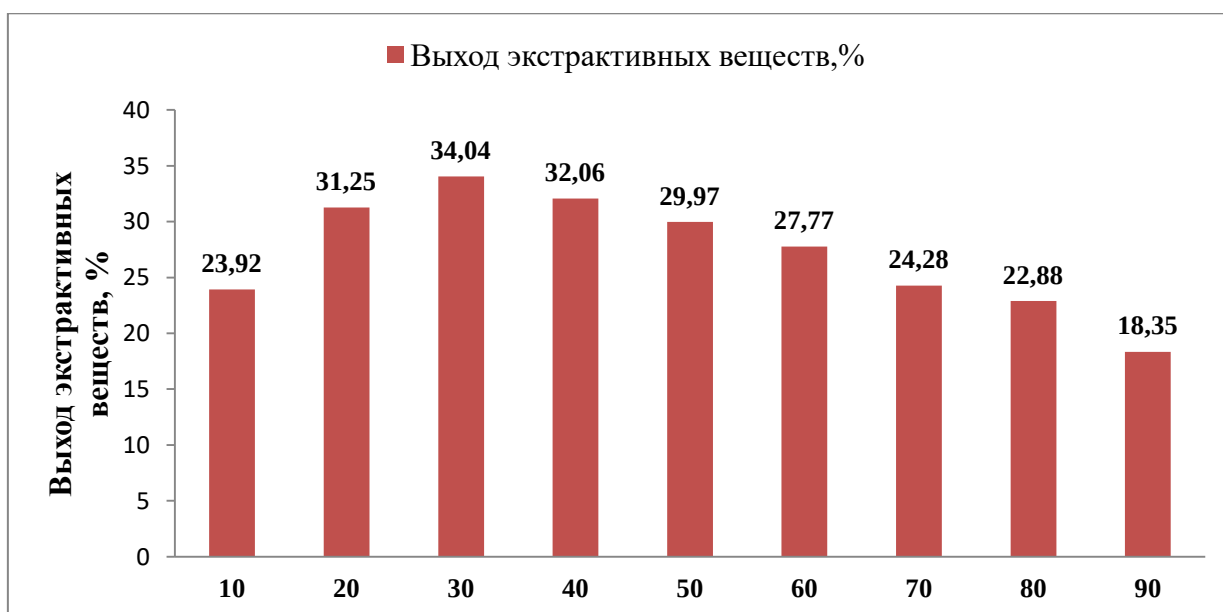


Рисунок 1. Экстрагирование с этанолом в различных концентрациях.

Из результатов анализов, представленных на рисунке 1, видно, что максимальное количество экстрактивных веществ, полученных с использованием этилового спирта концентрацией 30% и 40%, составляют 34,04% и 32,06% соответственно. Это свидетельствует о том, что наибольшее количество биологически активных веществ содержится в 30% спиртовом растворе, в состав которого входит большое количество экстрактивных веществ. К ним относятся такие вещества, как водорастворимые витамины, аминокислоты, углеводы и фенольные соединения, содержащиеся в экстракте лагенарии. Небольшое количество экстрактивных веществ, полученных при экстракции 90% этиловым спиртом, составило 18,35%, что соответствует извлечению жирорастворимых компонентов из лагенарии. К этим веществам относятся такие компоненты, как каротиноиды, жирорастворимые витамины А, D, E, К и др., стероиды, фитол и эфирные масла.

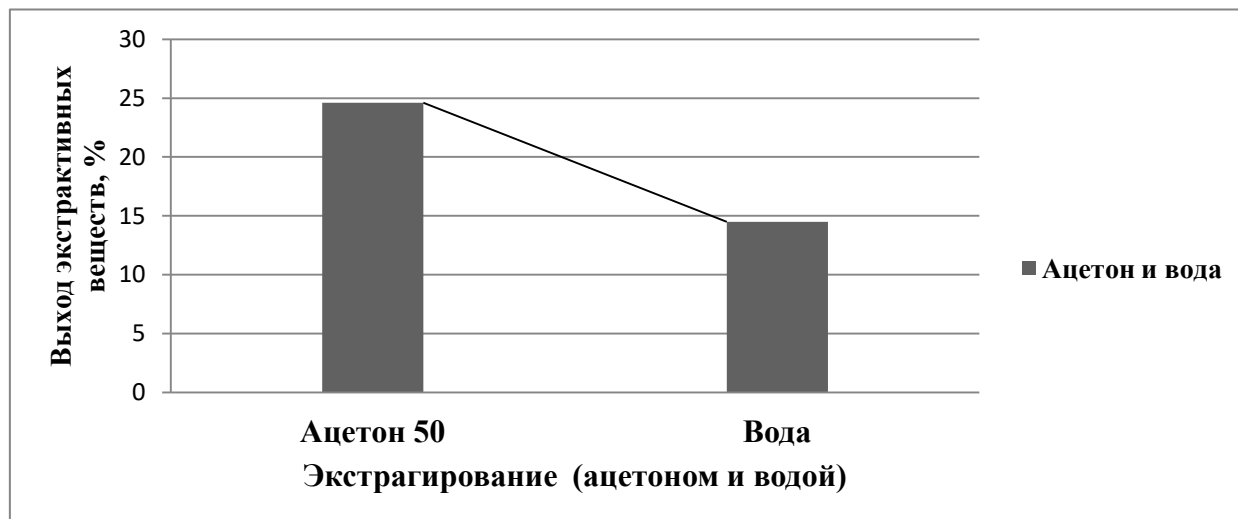


Рис 2. Экстрагирование с ацетоном и водой.

Как видно из рисунка 2, 50%- ным водно-ацетоновым раствором извлекается – 24.6 % веществ, а при экстракции водой выход экстрактивных веществ составил до 14.5%.

При разработке технологии получения фитохимических веществ, наряду с соответствующим экстрагентом, размер частиц сырья также

является важным технологическим фактором. Для определения оптимального для экстрагирования размера частиц, мы провели эксперименты на исследуемом сырье с размерами частиц 0,5 мм, 1 мм, 2 мм, 3 мм и 5 мм. Для каждой фракции частиц в качестве экстрагента был использован этанол с концентрацией 30%. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1. - Зависимость выхода экстрактивных веществ от размера частиц.

Размер частиц сырья, мм	0,5	1	2	3	5
Выход экстрактивных веществ, %	28,5	30,6	33,3	35,4	29,2

В целях изучения динамики экстрагирования по времени, проводили экстрагирование с разной продолжительностью (30, 60, 90, 120, 150, 180 и 210 минут). Самая приемлемая продолжительность экстрагирования, согласно полученным результатам, составила 120 минут (рис 3.) За это время выход фитовеществ составил 35,4%. В трех последующих точках времени выход повышается незначительно.

На основе проведенных экспериментов было доказано, что самый подходящий экстрагент для получения фитосубстанций из мякоти лагенарии обыкновенной, произрастающей в Таджикистане, является 30 % этанол, самый оптимальный приемлемый размер частиц для данного сырья – 3 мм, самая приемлемая продолжительность экстрагирования 120 минут.

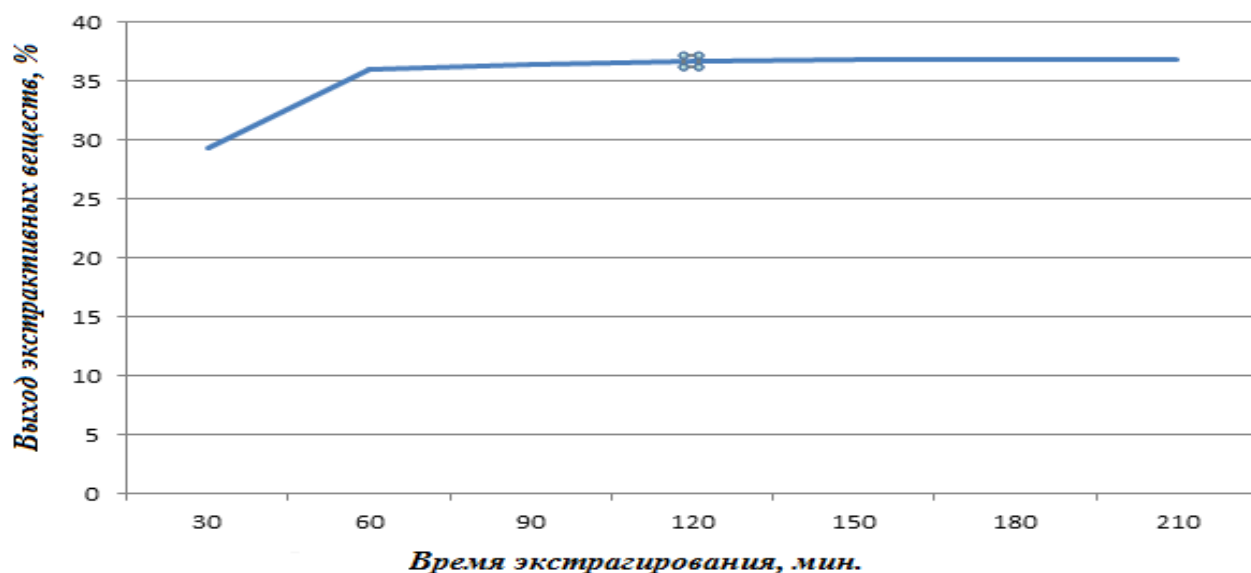


Рисунок 3. - Динамика экстрагирования *Lagenaria siceraria*

С целью выяснения некоторых свойств, характеризующих физические параметры у исследованного растения, были определены физико-химические свойства их экстрактов (табл.2).

Таблица 2. - Некоторые физико-химические показатели экстракта лагенарии обыкновенной

Настойка Лагенарии	Сухой остаток, %	pH	Показатель преломления n_D^{20}
	12.6	8.1	1.352

Как видно из таблицы 2, процентное содержание сухого остатка составляет 12.6 процента, показатель преломления равен $n_D^{20} 1.352$, pH 8.1, что указывает на содержание в настойке веществ щелочного характера.

В связи с этим представлялось важным изучить их качественное содержание с использованием цветных качественных реакций, характеризующих химический состав экстракта лагенарии (таб. 3).

**Таблица 3. - Содержание биологически активных веществ
в составе лагенарии обыкновенной**

Алкалоиды	Сапонины	Флавоноиды	Гликозиды	Витамины	Минералы	Кумарины	Аминокислоты	Эфирные масла,	Дубильные вещества
-	++	++	++	+	+	+	+	Следы	+

Как видно из представленной таблицы, в настойке лагенарии в достаточном количестве имеется множество биологически активных веществ типа сапонинов, флавоноидов, гликозидов, а также в незначительной степени есть витамины, минералы, кумарины и аминокислоты. Подобное сочетание биологически активных веществ с витаминами, минералами и аминокислотами в составе лагенарии обыкновенной позволяет предложить ее для всестороннего фармакологического исследования.

В составе лагенарии обыкновенной обнаружены практически все биологически активные соединения, действие которых влияет на повышение иммунного статуса. Дальнейшее изучение биологически активных соединений в составе лагенарии и проведение опытов на животных позволил создать БАД, обладающие гепатопротекторными свойствами для лечения заболеваний печени вирусной этиологии.

3.2. Экологическая чистота растительного сырья лагенарии обыкновенной

Изучение состава сырья лекарственных растений необходимо не только на наличие в них комплекса химических элементов, влияющих на различные реакции и процессы организма, но и на чистоту среды их обитания. Экологическая чистота лекарственных растений – один из важных

факторов, влияющих на выбор места сбора. Экологическая чистота лекарственных средств означает отсутствие в их составе токсичных элементов или их наличие в соответствии с нормами, установленными соответствующими ГОСТами.

Одно из основных требований заготовки лекарственного растительного сырья – это соблюдение её экологической безопасности. В состав растений входит много химических элементов, которые оказывают различное воздействие на организм. В связи с этим, было изучено наличие тяжелых элементов в составе растения лагенарии обыкновенной. Исследование было проведено в Центре “Таджикстандарт” атомно-адсорбционным методом на спектрофотометрах «Квант-2А» и «ICE THERMO» (табл. 4).

Таблица 4. - Физико-химические показатели и экологическая безопасность образца сырья

№	Название растения	Фактические показатели							
		Токсичные элементы, мг/кг							
		Zn	Cu	Zn	Cu	Pb	Cd	Pb	Cd
		Норма		Определение по ГОСТ 33824-2016		Норма согласно ТР РТ 010-2016		Определение по ГОСТ 33824-2016	
1	Лагенария обыкновенная - <i>Lagenaria siceraria</i>	0,2-50,0	0,05-30,0	0,569±0,013	4,21±1,0	5,0	0,2	0,132 ±0,04	0,00161 ±0,00015

Как видно из таблицы 4, содержание тяжёлых металлов и микроэлементов, согласно требованиям нормативно-правовых актов (по

экологической чистоте сырья лекарственных растений), находится в пределах безопасности для использования лагенарии обыкновенной в лечебных целях. Установлено, что лагенария в своём составе накапливает незначительное количество тяжёлых металлов.

3.3. Количественное определение суммы флавоноидов в мякоти плодов лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria*)

Следующим этапом исследований было выявление количественного состава флавоноидов в мякоти плодов лагенарии.

Результаты исследования, проведенные с использованием спектрофотометрического метода с различной концентрацией спирта в мякоти плода лагенарии, представлены на рис. 4.

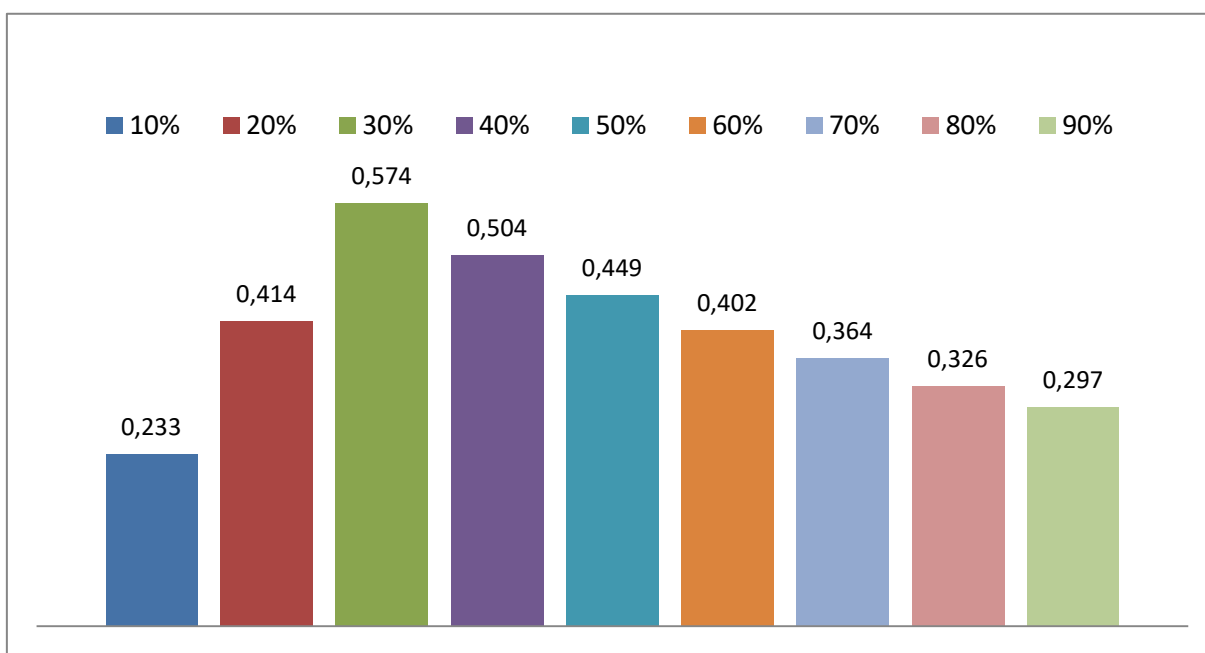


Рисунок 4.- Показатели извлечения флавоноидов в зависимости от концентрации экстрагента.

Из результатов спектрофотометрического анализа, представленных на рисунке 4, было обнаружено, что из состава мякоти плодов лагенарии обыкновенной при извлечении 30% этиловым спиртом получено максимальное количество флавоноидов до 0,57%. Установлено содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин в спиртовом извлечении в пределах от 0,23 до 0,57%.

В целях определения корреляционной зависимости общего количества флавоноидов, было приготовлено пять образцов экстракта, приготовленного на основе 30% этанола. В пять мерных колб объемом 25мл было помещено 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 и 3,0 экстрагированного раствора соответственно. В каждую из колб было добавлено по 10,0 мл 95% этанола, а затем по 2,0% раствора хлорида алюминия.

В остальных случаях операция проводилась аналогично. Результаты представлены в таблице 5 и на рисунке 5.

Таблица 5. - Методика определения корреляционной зависимости количества флавоноидов в экстрагированном растворе мякоти плода лагенарии 30 % спиртом.

Объем экстракт, мл	Индикатор устройства А средний (U)	Общее количество флавоноидов,% (X)
1,0	0,050	0,319
1,5	0,080	0,510
2,0	0,090	0,574
2,5	0,100	0,638
3,0	0,106	0,676

Используя результаты приведенные в таблице 4, мы построили прямую линию корреляционной таблицы в MS Excel, которая показана на (рис.5).

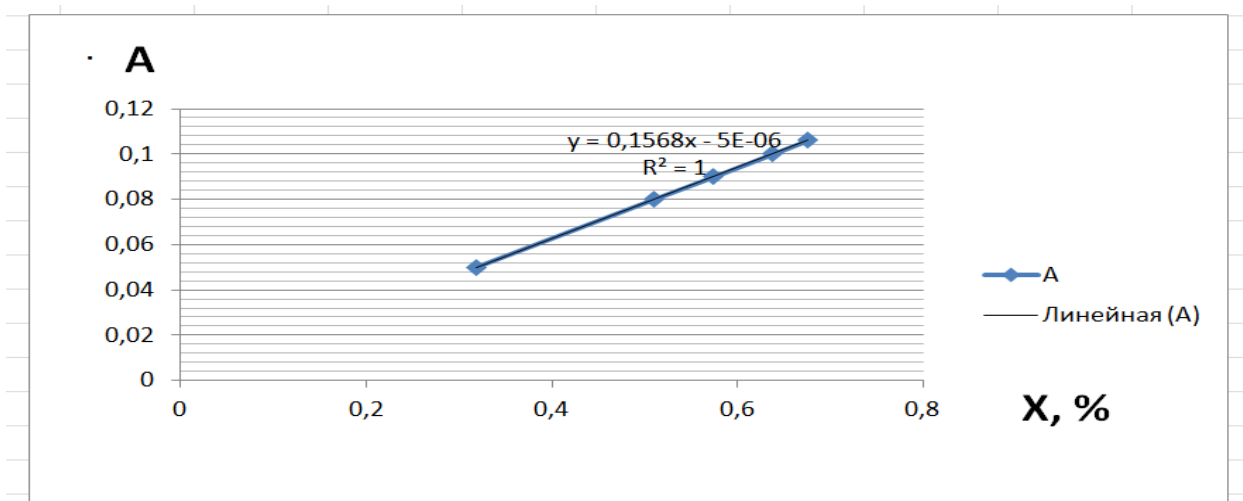


Рисунок 5. - Зависимость общего количества флавоноидов (X,%) от плотности (A) в 30% этиловом спиртовом экстракте лагенарии обыкновенной.

Как видно из рисунка 5, корреляция правильная и безошибочная.

Были исследованы флавоноиды в различных концентрациях: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 и 90% в соотношении 1: 100. Результаты показали, что по сравнению с другими концентрациями извлечение 30% спиртом флавоноидов из мякоти лагенарии составляет до 0,57% по сравнению с рутином.

3.4. ИК - спектроскопия в исследовании экстрактов лагенарии обыкновенной

Для определения содержания полифенолов в выделенных экстрактах использовали ИК-Фурье-спектроскопию (использовался прибор A 65 FT-IR (Perkin Elmer, Швейцария). Диапазон полученных спектров составлял от 4000 до 600 см⁻¹, анализ спектров проводился с помощью программного обеспечения Perkin Elmer Spectrum.

«Поскольку экстракты образцов являются водными и спиртовыми, полосы этанола и воды, вероятно, будут присутствовать во всех ИК-спектрах. Полосы поглощения в области 3268–3248 см⁻¹ в ИК-спектрах исследуемого экстракта обусловлены валентными колебаниями ОН-групп, характерными для этанола и воды» [14].

За счет валентного колебания С-Н появляются характерные полосы поглощения при 2972 и 2928 см⁻¹ (полосы при 2972, 2932 и 2928 см⁻¹ могут

быть обусловлены валентным колебанием групп CH_2 и CH_3). Полоса поглощения, связанная с валентным колебанием группы $\text{C}=\text{C}$, обнаружена при 1691 см^{-1} , а полосы поглощения при 1587 , 1566 , 1398 и 1388 см^{-1} могут быть связаны с валентным колебанием эфирной группы $-\text{COO}$. Полосу поглощения при 1267 см^{-1} можно отнести к валентным колебаниям $\text{C}-\text{O}$ полиолов, таких как гидроксифлавоноиды. Полосы поглощения 1079 и 1049 см^{-1} могут быть связаны с валентным колебанием $\text{C}-\text{O}$ спиртовой группы. Полоса поглощения при 1018 см^{-1} может быть связана с колебаниями $\text{C}-\text{O}$ групп полиолов и гидроксифлавоноидов. Полосы поглощения 921 и 924 см^{-1} могут быть связаны с колебанием группы $-\text{COOH}$ кислотной группы. Полосы 890 и 870 см^{-1} связаны с валентными колебаниями $\text{CH}=\text{CH}_2$.

ИК- спектр водного экстракта мякоти лагенарии обыкновенной представлен на рис. 6.

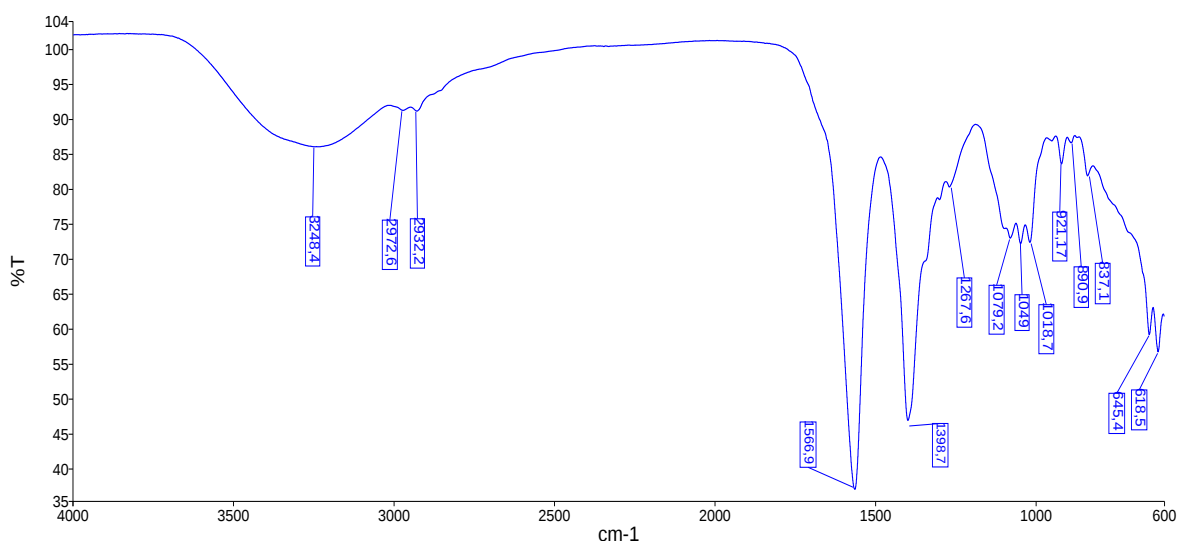


Рисунок 6. - ИК - спектр водной экстракции лагенарии обыкновенной (L. Siceraria).

Как видно из данных представленных на рисунке 6, полосы при 3248 см^{-1} , относящиеся к гидроксильным группам, и полосы при 2972 и 2932 см^{-1} могут наблюдаться вследствие валентных колебаний $\text{C}-\text{H}$ (полосы поглощения при 2972 и 2932 см^{-1} являются валентными колебаниями, а CH_2 могут быть обусловлены группы CH_3), связанные с симметричными валентными колебаниями групп $-\text{C}-\text{H}-\text{CH}_2$. Полосы поглощения находятся

при 1566 и 1398 см^{-1} , тогда они связаны с валентными колебаниями эфирных групп – COO -. Полосы поглощения при 1267 и 1018 см^{-1} указывают на наличие $\text{C} - \text{O}$ -группы полиолов и гидроксифлавоноидов. Что касается наличия полос при 1079 и 1049 см^{-1} , то это может быть связано с валентным колебанием $\text{C} - \text{O}$ спиртовой группы. Следует отметить, что полосы поглощения при 921 и 924 см^{-1} могут быть связаны с колебанием кислотных групп - COOH , а полосы при 890 и 870 см^{-1} — с валентным колебанием $\text{CH} = \text{CH}_2$.

В спиртовом экстракте мякоти лагенарии обыкновенной рис. 7, также были обнаружены некоторые полосы, описанные для водного экстракта мякоти лагенарии (*L. Siceraria*). также наблюдались некоторые полосы, определенные для водного экстракта мякоти лагенарии (*L. Siceraria*). Эти полосы при 3268 см^{-1} (группы OH), 2928 см^{-1} (алифатические CH_2), 2928 см^{-1} обусловлены валентными колебаниями связи C-H (симметричные валентные колебания $-\text{C-H}-$ группы CH_2), 1691 см^{-1} связана с валентными колебаниями групп $\text{C}=\text{C}$, полосы 8 и 7 см^{-1} , а также $\text{C}=\text{C}$ обусловлены наличием валентных колебаний эфирных групп $-\text{COO}-$.

Как видно из данных, представленных на рисунке 7, некоторые группы, ранее описанные для водного экстракта лагенарии (*L. siceraria*), были также выявлены в спиртовом экстракте лагенарии обыкновенной. С ним связано 3268 см^{-1} (OH -группы), 2928 см^{-1} (алифатические CH_2), 2928 см^{-1} валентного колебания C-H (симметричные валентные колебания $\text{CH}_2 - \text{C} - \text{H}$ - группы), 1691 см^{-1} . Валентное колебание групп $\text{C}=\text{C}$, а также полосы поглощения при 1587 и 1388 см^{-1} указывают на наличие валентных колебаний эфирных групп $-\text{COO}-$.

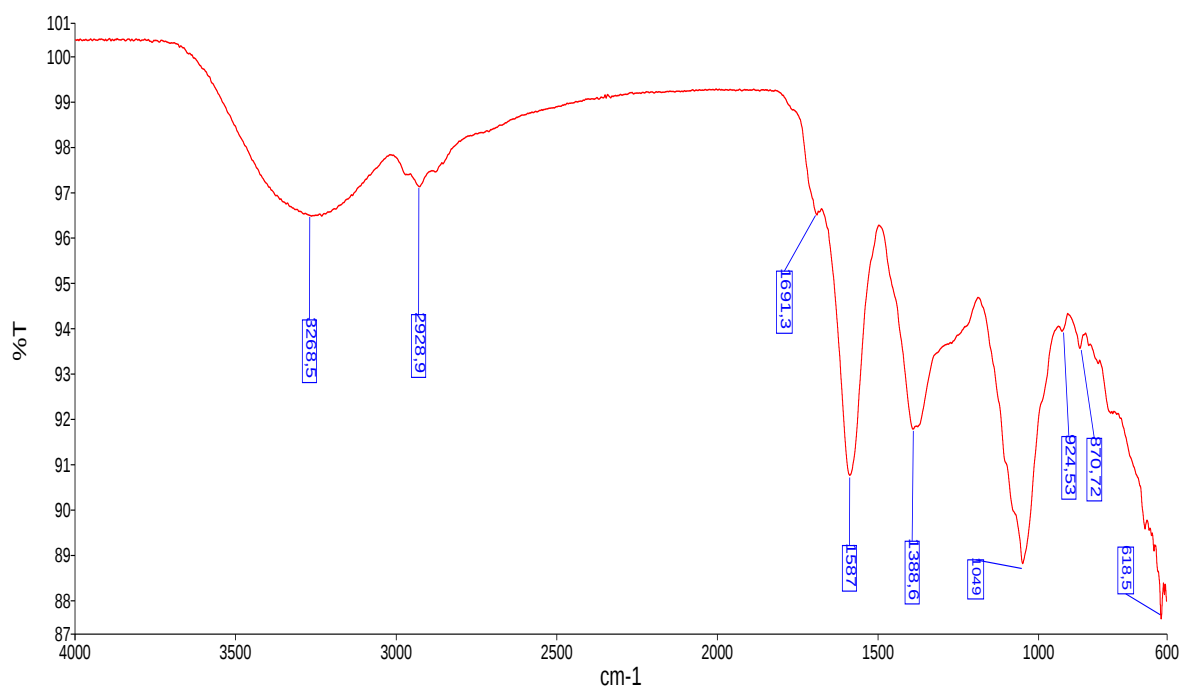


Рисунок 7. - ИК - спектр спиртового экстракта лагенарии (*L. siceraria*).

Как видно из рисунка 7, полоса при 1049 см^{-1} может быть обусловлена валентным колебанием С - О спиртовой группы. Полосы поглощения при 1103 , 1074 , 1049 и 877 см^{-1} можно отнести к углеводам. Среди этих полос, полосы 1103 , 1074 и 1048 см^{-1} могут быть связаны с полисахаридами. Полосы при 1103 и 1074 см^{-1} также могут быть связаны с симметричным растяжением (С – О – С), а полоса 1048 см^{-1} также может быть связана с колебанием групп ОН. Полоса поглощения при 924 см^{-1} может быть связана с колебаниями кислотных групп – COOH групп а при 870 см^{-1} может бить связана с валентным колебанием $\text{CH} = \text{CH}_2$.

Полученные спектры соответствующих химических групп указывают на то, что в составе экстракта из лагенарии (*L. siceraria*) содержатся полифенольные соединения, что и было нами подтверждено при проведении анализа с помощью ИК-спектроскопии. Наши результаты согласуются с результатами исследований других авторов о том, что спектры поглощения полифенолов FT-IR подтверждают присутствие этих соединений в исследованных экстрактах (рис. 8).

При проведении спектроскопии полифенолов наблюдаются характерные области поглощения: $3400\text{--}3100\text{ см}^{-1}$ для гидроксильных групп (ОН), 2972 и 2928 см^{-1} для (СН) сахаридов или гликозидных групп, 1691 см^{-1} для валентных колебательных групп, ($=\text{C}$) в ароматических кольцах и при 1587 , 1566 , 1398 и 1388 см^{-1} для карбоновых кислот или сложноэфирных групп ($-\text{COO}-$).

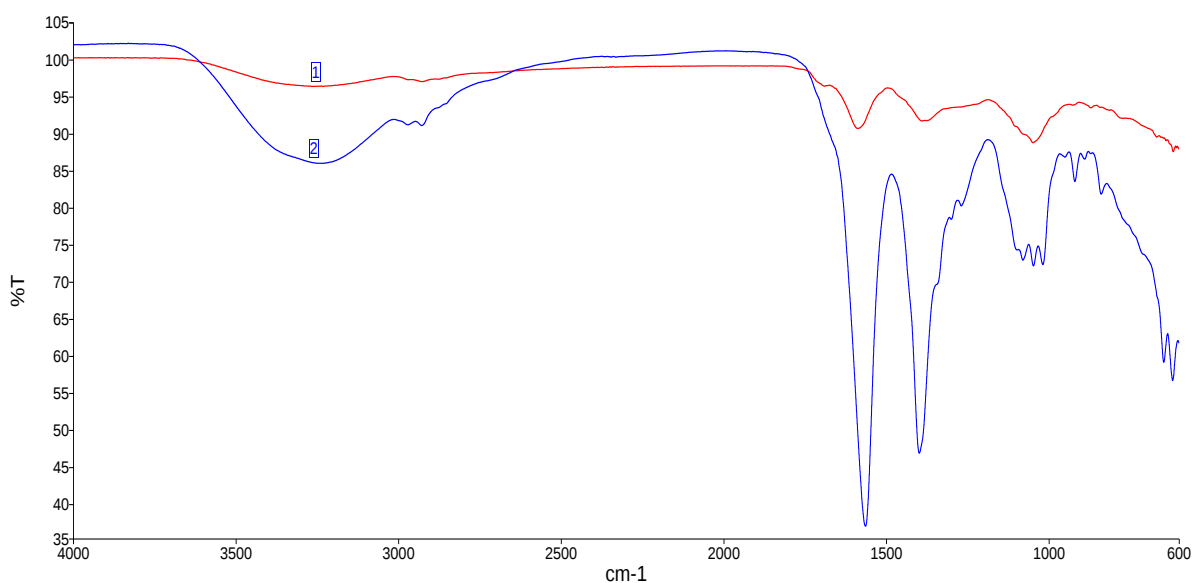


Рисунок 8. - Спиртовая (1) и водная экстракция (2) лагенарии обыкновенной (*L. siceraria*).

Полосы поглощения при 1267 и 1018 см^{-1} характерны для полиолов (гидроксифлавоноиды) ($\text{C}-\text{O}$), 1079 и 1049 см^{-1} для спиртовых групп ($\text{C}-\text{O}$), около 920 см^{-1} для кислотных групп ($-\text{COOH}$) и 890 , 870 см^{-1} для сахаридов $\text{CH}=\text{CH}_2$.

Таким образом, в ИК – спектрах выделенных гидрооксифлавоноидов характерные полосы поглощения при 1267 и 1018 см^{-1} для полиолов ($\text{C}-\text{O}$), 1079 и 1049 см^{-1} для спиртовых групп ($\text{C}-\text{O}$), около 920 см^{-1} кислотных групп ($-\text{COOH}$), $\text{CH}=\text{CH}_2$ полос поглощения 890 и 870 см^{-1} для сахаридов. Можно сделать вывод, что фенольные соединения, содержащиеся в экстрактах лагенарии, проявляют валентные колебания ароматических связей ($\text{C}-\text{C}$), связанных с ОН - группами. Спектры полосы между 1800 и 600 см^{-1} позволяют идентифицировать профили конкретных полос, которые типичны

для гидроксильных групп ароматических молекул в экстрактах полифенолов. Спектры полифенолов показывают характерные области поглощения 3400-3100 см^{-1} для гидроксильных групп (ОН), 2972 и 2928 см^{-1} (С-Н) для сахаридов или гликозидных групп. Полоса поглощения 1691 см^{-1} это валентные колебания групп (С = С) в ароматических кольцах, а полосы поглощения при 1587, 1566, 1398 и 1388 см^{-1} в карбоновой кислоте или сложноэфирных группах. (- COO -).

3.5. Определение острой токсичности настойки мякоти лагенарии обыкновенной

При создании новых препаратов растительного происхождения одним из обязательных критериев при проведении доклинических испытаний является оценка их безопасности. В связи с этим было проведено определение острой токсичности сырья мякоти лагенарии обыкновенной.

Исследования острой токсичности настойки лагенарии проводились на мышах обоего пола массой 20 - 22 г, которые были разделены на 3 группы по 6 особей.

В ходе эксперимента мышам 1-й группы внутрижелудочно вводили настойку плодов лагенарии в объеме 1 мл, что соответствует дозе 5000 мг/кг. Во второй группе внутрижелудочно вводили 0,8 мл настойки лагенарии, что соответствует дозе 4000 мг/кг. Мышам 3-й группы внутрижелудочно вводили по 0,4 мл, что соответствует дозе 2000 мг/кг.

После введения мышам настойки лагенарии мы наблюдали за активностью и реакцией мышей на механические раздражители в течение 2 часов, в течение этого периода животные активно приближались к пище, поведение было адекватным. Все было в норме.

В ходе эксперимента у мышей, которым вводили настойку лагенарии внутрь желудка в первые сутки во всех группах, не наблюдалось летальных исходов. На второй день эксперимента две мыши из первой группы погибли. На четвертый день эксперимента в первой и второй группах наблюдалась гибель только одной мыши. На шестые сутки эксперимента погибли две

мышь первой группы и одна мышь второй группы. На седьмые сутки эксперимента одна мышь из второй группы погибла. На восьмые сутки эксперимента одна мышь из первой группы погибла. В последний день эксперимента в третьей группе подопытных мышей, получавших дозу 0,4 мл настойки лагенарии, гибели животных не наблюдалось. Данная доза может использоваться в дальнейших экспериментах.

Проведен расчет по методу Кербера: $ЛД_{50} = ЛД_{100} \sum(zd)/n$,

z – Половина суммы числа погибших, от двух последующих доз;

d - Разница между двумя последующими дозами;

n – Количество животных, взятых в опыт на каждую группу.

$$ЛД_{50} = 4000 - \sum - (5000 + 6500 + 4000)/24 = 4000 - 645,8 = 3354,1 \text{ мг/кг}$$

Общая продолжительность наблюдения за животными опытных групп составила 14 суток.

**Таблица 6. - Показатели острой токсичности настойки (1:10)
лагенарии обыкновенной для белых мышей**

№	Доза, мг/кг	Путь введения	Кол-во павших Животных	Всего животных
1	5000	Внутрь	6	6
2	4000	Внутрь	3	6
3	2000	Внутрь	0	6

Как показано в результатах таблицы 5, при внутрижелудочном введении белым мышам настойки лагенарии $ЛД_{50}$ составила в среднем 4000 мг/кг массы тела. $ЛД_{100}$ при внутрижелудочном введении настойки лагенарии составила 5000 мг/кг массы, данная доза вызвала гибель всех подопытных белых мышей.

Таким образом, исследование токсичности настойки мякоти лагенарии обыкновенной показало, что летальная доза настойки лагенарии, при которой

50% животных погибло, при пероральном введении составляла 4000 мг/кг. По модифицированной классификации Организации экономического сотрудничества и развития настойку лагенарии можно отнести к V классу, т.е. практически нетоксичной, что позволяет судить о безопасности данного вида сырья и дает основания для проведения дальнейших исследований.

3.6. Влияние настойки лагенарии обыкновенной на белых мышей, зараженных HBV

Следующим этапом наших исследований было изучение влияния настойки лагенарии обыкновенной на белых мышей, зараженных вирусом гепатитом В. Используя метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), мы определили титр гепатита В в сыворотке крови. А также в сыворотке крови были исследованы биохимические показатели активности ферментов АлАТ, АсАТ, билирубин и др.

Экспериментальная модель вирусного гепатита В была вызвана введением 0,2 мл сыворотки крови, содержащей высокий уровень (более 1 млн. копий на мл) ДНК вируса гепатита В, в результате чего через 30 дней у мышей развился вирусный гепатит В.

Эксперименты были проведены на 40 беспородных белых мышах обоего пола весом 18-22 г. Животные были распределены на следующие серии:

1 – интактные; 2 – контрольные животные, которым подкожно вводили HBV (сыворотки больных с высоким титром антител HBV) из расчета 0,2мл / на 20 грамм массы животных 1 раз в течение 3 месяцев, содержащиеся в отдельном виварии; 3 – группа мышей, которым наряду с ВГВ ежедневно в течение 2 месяцев внутрижелудочно (в/ж) вводили настойку лагенарии в дозе 0,5 мл (100 г/ массы); 4 – группа мышей, которым наряду с ВГВ ежедневно в течение 2 месяцев внутрижелудочно вводили настойку лагенарии в дозе 1 мл (100 г/ массы).

В таблице 6 представлены данные влияния настойки лагенарии на экспериментальных мышей, зараженных ВГВ. Как видно из таблицы 5, в случае введения настойки в дозе 0,5 мл 100 г/ массы тела животного отмечалось резкое снижение уровня вирусемии. При повышении дозы настойки до 1 мл 100 г/ массы тела животного наблюдалось дальнейшее снижение степени вирусемии.

Таблица 7. - Влияние настойки лагенарии на уровень ДНК вируса “В” при экспериментальном гепатите у мышей

Показатели	Серия опытов и дозы		
	Контрольные (n=10)	0,5 мл 100 г/ массы (n=10)	1 мл 100 г/ массы (n=10)
ДНК HBV	$4.11 \cdot 10^5 \pm 0,03$	$4.33 \cdot 10^2 \pm 0,01$	$3.33 \cdot 10^1 \pm 0,02$
	100%	- 64%	- 48,4%

Было необходимо для понимания этого явления исследовать влияние настойки лагенарии на такие важные биохимические показатели крови, как активность ферментов АсАТ, АлАТ, билирубин, содержание общего белка, альбумина и глюкозы.

Результаты исследования ферментов аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы (АсАТ и АлАТ) представлены в рис. 9 и 10.

Как видно из результатов, представленных на рисунке 9, у экспериментальных животных, инфицированных вирусом гепатита В, при сравнении с интактной, почти в 2,3 раз повышается активность фермента АсАТ в сыворотке крови (70 ± 0.86 ; 30 ± 0.44 Ед/л – соответственно в интактной группе ($p < 0,01$)).

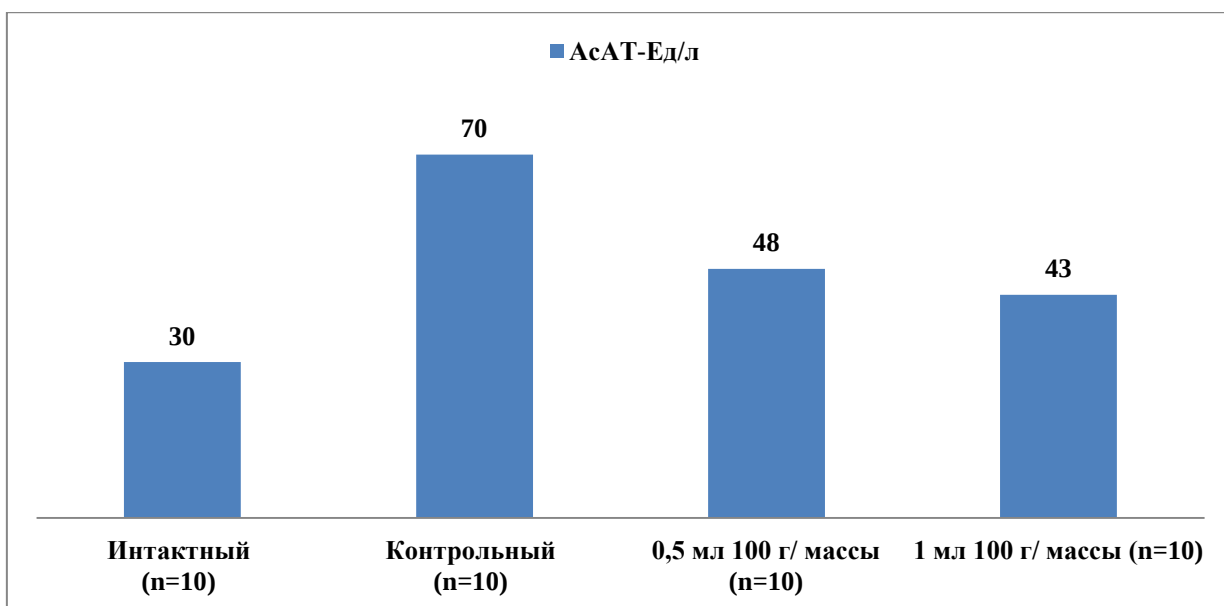


Рисунок 9. - Влияние настойки лагенарии на активность фермента АсАТ в сыворотке крови при экспериментальном ВГВ

В опытной группы мышей, получавшей настойку лагенарии обыкновенной в дозе 0,5 мл на 100 г/массы тела, произошло снижение активности изучаемого фермента. Настойка лагенарии в дозе 0,5 мл на 100 г/массы тела снизила активность фермента АсАТ на 31% (48 ± 0.6 ; 70 ± 0.86 Ед/л ($p < 0,01$)) по сравнению с контрольной группой. При увеличении дозы до 1 мл на 100 г/массы тела снижение данного показателя в сыворотке крови, по отношению к контролю, достигло 45% (43 ± 0.51 ; 70 ± 0.86 Ед/л ($p < 0,01$)). Однако существенной разницы в терапевтическом эффекте между разными дозами препарата (0,5 мл и 1 мл на 100 г/массы) не наблюдалось.

Действие дозы 0,5 мл на 100 г/массы тела по отношению к дозе 1 мл на 100 г/массы тела, оказалось слабее на 10,4% (48 ± 0.6 ; 43 ± 0.51 Ед/л). При введении настойки лагенарии во всех сериях опыта наблюдалась типичная картина с более выраженным протективным эффектом.

Из анализов, представленных на рисунке 10, видно, что у животных, инфицированных вирусом гепатита В, активность фермента АлАТ повышалась и составляла 118,6% ($94 \pm 2,33$; 43 ± 1.48 Ед/л) ($p < 0,01$), по сравнению с группой интактных животных.

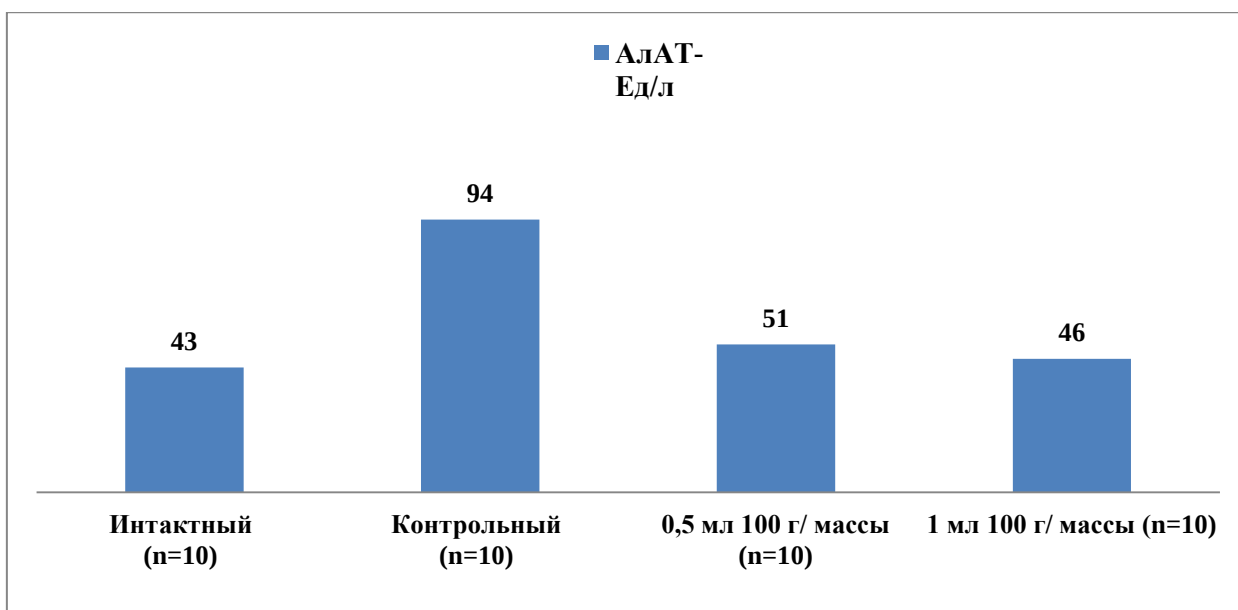


Рисунок 10. - Влияние настойки лагенарии на активность фермента АлАТ в сыворотке крови при экспериментальном ВГВ

Результаты анализов крови в опытной группы, принимавшей настойку лагенарии обыкновенной в дозе 0,5 мл на 100 г/массы тела, показали снижение активности изучаемого фермента. Настойка лагенарии в дозе 0,5 мл на 100 г/массы привело к снижению активности фермента АлАТ на 45,7% (51 ± 1.60 ; 94 ± 2.33 Ед/л) ($p < 0,01$) по отношению к контрольной группы животным. При увеличении дозы до 1 мл на 100 г/массы тела наблюдалось снижение данного показателя на 51,1% (46 ± 1.55 ; 94 ± 2.33 Ед/л) ($p < 0,01$). в сыворотке крови, по отношению к контролю. Однако существенной разницы в терапевтическом эффекте между разными дозами препарата (0,5 мл и 1 мл на 100 г/массы) не наблюдалось. Терапевтический эффект от дозы 0,5 мл на 100 г/массы тела от терапевтической дозы 1 мл на 100 г/массы тела оказался слабее на 9,8% (51 ± 1.60 ; 46 ± 1.55 Ед/л) При введении настойки лагенари 1 мл на 100 г/массы во всех сериях опыта наблюдалась типичная картина с более выраженным протективным эффектом.

Результаты исследования биохимических показателей билирубина, общего белка, альбумина и глюкозы представлены в таблице 7.

Таблица 8. - Влияние настойки лагенарии на некоторые биохимические показатели функции печени у белых мышей, при экспериментальном ВГВ

Серия опытов	Билирубин мкмоль/л	Общий белок г/л	Альбумин г/л	Глюкоза ммоль/л
Интактный (n=10)	16,4±0,10	56,4±1,2	34±1,15	4,8±0,1
Контрольный (n=10)	25±0,33*	50±1,4	29±1,11	6,4±0,5*
0,5 мл 100 г/ массы (n=10)	22±0,29**	52±1,27	32±1,0	5,7±0,7**
1 мл 100 г/ массы (n=10)	19,4±0,26**	55,3±1,5	34,6±1,10	5,2±0,4**

Примечание: * – $p < 0,01$ в сравнении с интактной группой ** – $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой

Как видно из данных представленных в таблице 6, через 30 дней после заражения мышей вирусом гепатита В, обнаружилось резкое повышение активности общего билирубина и умеренное повышение глюкозы в крови у животных контрольной группы. Такое резкое повышение общего билирубина (почти на 52,4%), свидетельствует о печеночно-клеточном повреждении. Наблюдалась также тенденция к снижению общего белка на 11,35% и особенно фракции альбуминов на 14,7%. Это указывает о повреждении клеток печени и печеночно-клеточной недостаточности органа. При введении настойки лагенария во всех сериях опыта наблюдалась типичная картина с более выраженным протективным свойством в дозе 1 мл на 100 г/кг массы тела. Однако существенной разницы в терапевтическом эффекте между разными дозами препарата (0,5 мл и 1 мл на 100 г/ массы) не наблюдалось. Однако, препарат в дозе 0,5 мл на 100 г/ массы тела снижал степень увеличения уровня общего белка и его альбуминовой фракции по отношению к контрольной группе в меньшей степени по сравнению с дозой 1 мл на 100 г/ массы тела. Такая же картина наблюдалась относительно уровню глюкозы крови у этих опытных групп животных в сравнении с контрольными мышами.

Таким образом, при внутрижелудочном введении настойки лагенарии наблюдается уменьшение степени вирусемии и снижение активности ферментов у опытных групп животных по отношению к контрольной группе. Это косвенно свидетельствует о действии препарата на вирус и уменьшении его отрицательного влияния на функцию печени. В определенной степени можно считать, что цитопротективное свойство по отношению к клеткам печени, что указывает о перспективности использования настойки лагенарии как лекарственного (гепатопротекторного) средства.

3.7. Влияние экстракта лагенарии обыкновенной при остром токсическом поражении печени CCl_4

Следующим этапом наших исследований было изучение влияния экстракта лагенарии при токсическом поражении печени CCl_4 у экспериментальных крыс. Установлено, что 14- дневное введение CCl_4 , как эталон поражения печени и его дисфункции оказывает влияние на ряд метаболических процессов, в частности, повышение активности маркеров цитолитического синдрома аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы (АлАТ, АсАТ) и холестаза (щелочной фосфатазы, билирубин), а также нарушению обмена белков, углеводов и развитию анемии. Эти изменения при введении экстракта лагенарии обыкновенной приводят к снижению активности ферментов процесса переаминирования, уменьшением содержания общего билирубина и щелочной фосфатазы, а также восстановлению обменных процессов, которые предотвращают развитие анемии у крыс с подострым токсическим гепатитом.

Как видно из таблицы 8, крысы тяжело переносили отравление CCl_4 . В результате острой интоксикации от CCl_4 в контрольной серии в течении 14 дней интоксикации – погибло 50 % животных. В живых осталось 5- 50% белых крыс.

**Таблица 8. - Выживаемость животных при пероральном введении доз ЭЛО
на модели поражения печени CCl₄**

Группы Животных	График проведения эксперимента														Общее количество животных, взятых в эксперимент	Количество погибших животных	% выживших животных
Интактные	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	10	10	100
Контрольные CCl ₄ 2 мл/кг	Δ		Δ 2		Δ		Δ 1		Δ		Δ 1		Δ 1		10	5	50
CCl ₄ 2 мл/кг + ЭЛО 50 мг/кг	+ Δ	+	+ Δ	+	+ Δ 1	+	+ Δ	+	+ Δ 1	+	+ Δ	+	+ Δ	+	10	3	70
CCl ₄ 2 мл/кг + «Карсил» 50 мг/кг	+ Δ	+	+ Δ 1	+	+ Δ	+	+ Δ	+	+ Δ 1	+	+ Δ	+	+ Δ 1	+	10	3	70

Примечания: ▼ - пероральное введение растворителя (вода очищенная); Δ - введение CCl₄; + - введение ЭЛО; количество погибших животных в определенные дни опыта указано цифрами

В группе подопытных животных, которым через металлический зонд в желудок вводили экстракт лагенарии обыкновенной (ЭЛО) в максимальной дозе 50 мг/кг массы тела, летальный исход составил 30% подопытных животных. Выживаемость белых крыс составила 7 (70%).

В группе сравнения крысам, которым вводили известный препарат «Карсил» в максимальной дозе (50 мг/кг массы тела), летальный исход составил 30%. В живых осталось 7 (70%) белых крыс.

Сравнительный анализ эффективности экстракта лагенарии обыкновенной с препаратом Карсил оказался идентичным.

Прирост веса у белых крыс при остром токсическом поражении печени CCl₄, получавших экстракт лагенарии обыкновенной, отражён в таблице 9.

Таблица 9. - Увеличение массы тела у белых крыс с острым токсическим поражением печени CCl₄, получавших экстракт лагенарии обыкновенной.

Серия опытов и дозы на кг массы	Динамика веса <u>в граммах</u> в процентах через		Средний вес и весовой коэффициент печени у животных
	Исходный вес, принятый за 100 %	На 15 день эксперимента	
Интактные	<u>156,1±10,3*</u>	<u>209,6 ±6.6**</u>	<u>4,7±0,1***</u>
Контрольные	<u>203,1 ±14,1</u>	<u>227,4 ±10,1</u>	<u>5,0±0,2</u>
CCl ₄ 2мл/кг	p≤0,04	p≤0,04	p≤0,04
CCl ₄ 2 мл/кг + СЭЛО 50 мг/кг	<u>186,2±13,1</u>	<u>236,8±9,6</u>	<u>8,2±0,3</u>
	p≤0,04	p≤0,04	p≤0,03
CCl ₄ 2 мл/кг + «Карсил» 50 мг/кг	<u>171,7±12,0</u>	<u>231,4±8,5</u>	<u>7,2 ±0,3</u>
	p≤0,04	p≤0,03	p≤0,03

Примечание: M±m. P < 0, 01-0,05 * - Значение P коэффициента 15 дневного эксперимента, дано по отношению к исходному 100%** , а коэффициент печени*** дано по отношению 15 дневного срока эксперимента.

Применение ЭЛО в дозе 50 мг/кг массы, составило прирост веса на 27,1 % по отношению исходному.

Препарат «Карсил» в дозе 50мг/кг массы, на 14 день эксперимента для прироста веса в 34,7% к исходному весу.

Средний вес и весовой коэффициент печени у животных при остром токсическом поражении печени от CCl₄, получавших экстракт лагенарии обыкновенной, препарат «Карсил»: отмечается статистически недостоверное увеличение печени по отношению к исходному весу.

При острой интоксикации CCl_4 вводимого внутривенно в дозе 2 мл/кг возникало тяжёлое нарушение со стороны ферментообразующей функции печени.

Влияние экстракта лагенарии обыкновенной на активность фермента АЛАТ в сыворотке крови при токсическом гепатите

Пероральное введение экспериментальным животным четыреххлористого углерода вызывает токсическое поражение печени, которое запускает процесс ПОЛ и белков, что приводит к повышению проницаемости мембран гепатоцитов и их разрушению, определяемому как цитоллиз. При этом в сыворотке крови наблюдается повышение активности аланинаминотрансферазы (АЛАТ). В контрольной группе животных, которым внутривенно вводили CCl_4 в дозе 2 мл/кг массы тела, через 1 сутки введения активность фермента АЛАТ в сыворотке крови увеличилась на 262% ($280 \pm 9,2$; $77,4 \pm 3,55$ Ед/л) по сравнению с группой здоровых животных (Рис. 11).

Повышение активности трансаминаз свидетельствует о повреждении мембран клеток печени и повышении их проницаемости, вследствие чего наблюдается выход органоспецифичных ферментов в кровь.

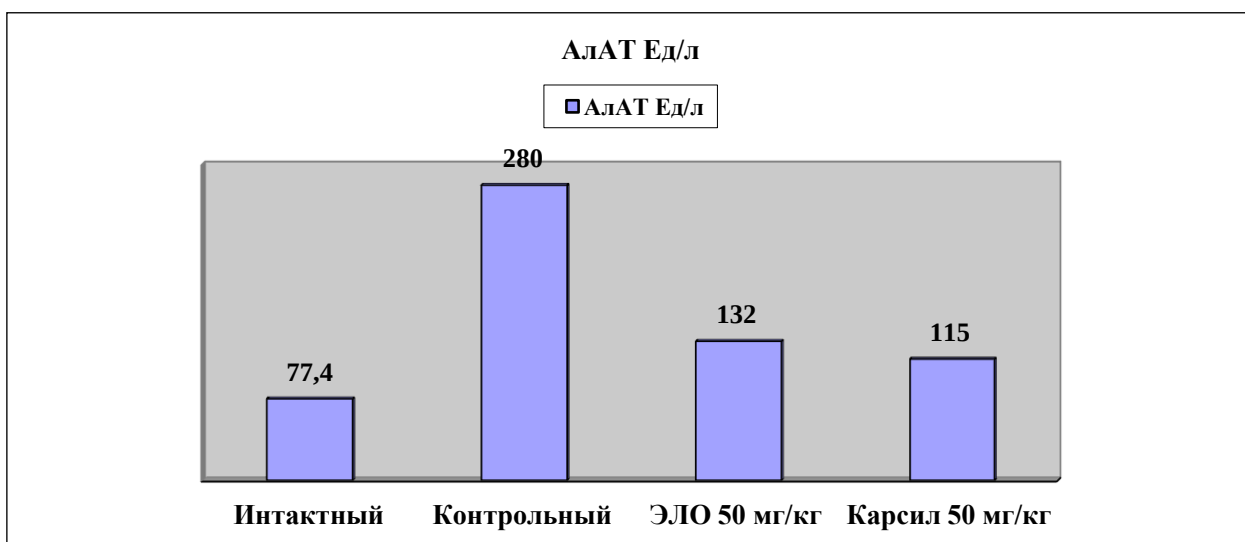


Рисунок 11. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсил на активность фермента АЛАТ в сыворотке крови при токсическом гепатите

Полученные результаты показывают, что в опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, активность фермента АлАТ снизилась на 52,8% ($132 \pm 5,05$; $280 \pm 9,2$ Ед/л) по сравнению с контрольной группой. Препарат «Карсил» оказал практически такое же действие, при котором активность фермента АлАТ снизилась до 57,3% ($115 \pm 4,77$; $280 \pm 9,2$ Ед./л) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, можно заключить, что при введении экстракта лагенарии животным подвергавшимся токсическому воздействию CCl_4 наблюдалось значительное уменьшение содержания АлАТ, что свидетельствует о ускорении процессов восстановления структуры гепатоцитов.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови при токсическом гепатите

При воздействии четыреххлористого углерода у экспериментальных животных, вызвавшего токсическое поражение печени, наблюдалось структурное повреждение гепатоцитов, что привело к патологическим процессам и дисфункции печени, что может быть следствием увеличения содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови.

В группе контрольных животных, получавших внутривенно четыреххлористый углерод, активность фермента щелочной фосфатазы в сыворотке крови увеличилась на 116,0% ($540,0 \pm 15,0$; $250,0 \pm 8,6$ Е/л) по сравнению с группой интактных животных. Это позволяет предположить, что причиной повышения активности щелочной фосфатазы сыворотки крови является развитие обструкции внутриклеточных протоков (Рисунок 12).

Благодаря высокому содержанию биологически активных веществ в экстракте лагенарии обыкновенной, ткань печени частично восстанавливает свои функции. Исследованный экстракт, приготовленный из лагенарии, может играть роль «буфера» при токсической свободнорадикальной атаке тетрахлорида углерода на печень и кроветворные органы.

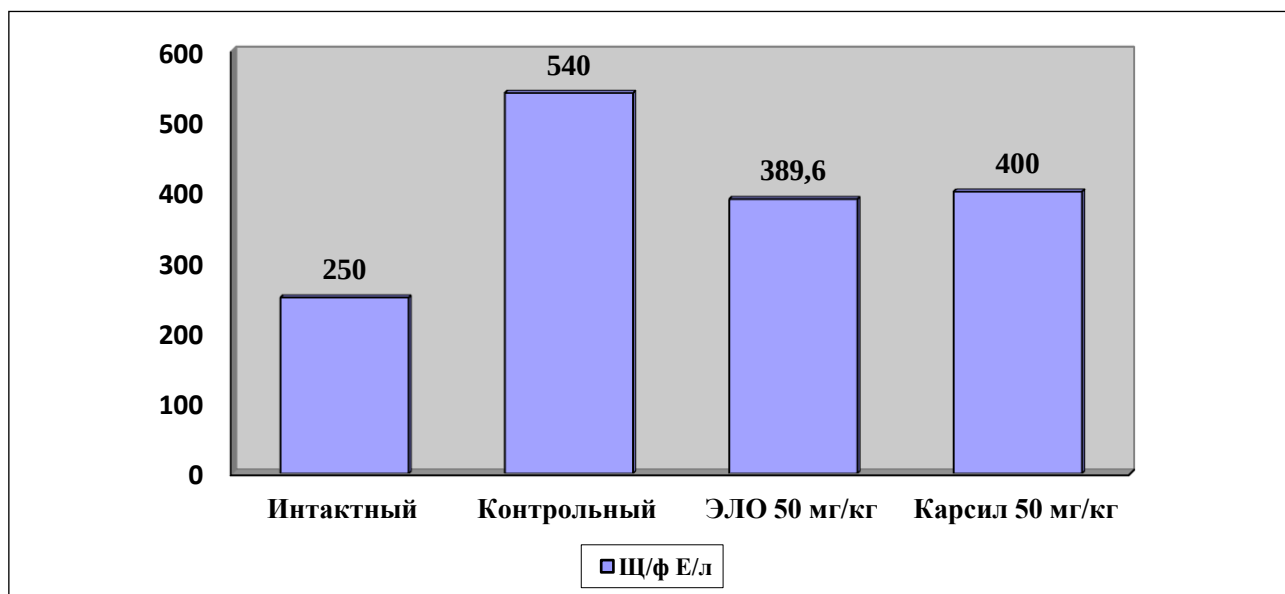


Рисунок. 12. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови при токсическом гепатите

Анализ полученных результатов указывает, что в опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, активность щелочной фосфатазы уменьшилась на 27,9% ($389,6 \pm 10,6$; $540,0 \pm 15,0$ Е/л) по сравнению с контролем.

В группе сравнения животных, которым вводили известный препарат Карсил в дозе 50 мг/кг массы тела, активность щелочной фосфатазы снизилась на 25,9% (400 ± 11 ; $540,0 \pm 15,0$; Е/л) по сравнению с контрольной группой.

Проведенные анализы показали, что в группе экспериментальных животных, введение экстракта лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, наблюдалось повышение устойчивости гепатоцитов к патологическим воздействиям и восстановление нарушенных функций клеток печени, что подтверждалось снижением активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на содержание общего белка в сыворотке крови при токсическом гепатите

Экспериментальный гепатит вызывали внутрижелудочным введением 50% масляного раствора CCl_4 в дозе 2 мл/кг.

Установлено, что токсическое поражение печени CCl_4 у экспериментальных крыс приводит к разрушению общего белка в печени.

Согласно результатам, представленным на рис. 8, отравление крыс CCl_4 приводит к снижению уровня общего белка в сыворотке крови контрольных животных.

В ходе эксперимента установлено, что у животных с поражением печени, отравленных четыреххлористым углеродом, понизилось содержание общего белка на 6,6% ($70 \pm 2,44$; $75 \pm 2,6$ г/л) ($p < 0,05$), в сыворотке крови по сравнению с интактной группой (Рис. 13)

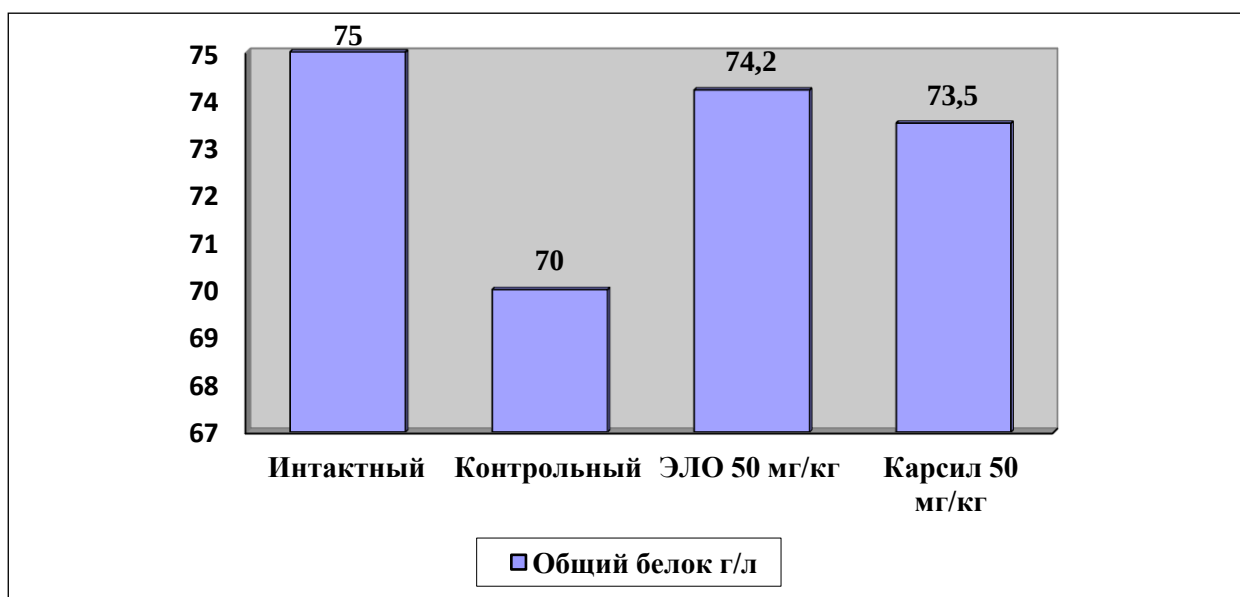


Рисунок 13. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание общего белка в сыворотке крови при токсическом гепатите

Из результатов, представленных на рис. 13, следует, что концентрация общего белка в опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, практически достигла уровня интактных крыс ($74,2 \pm 2,52$ г/л). В группе сравнения, получавшей известный

препарат Карсил в дозе 50 мг/кг, содержание общего белка увеличилось на 5 % ($73,5 \pm 2,2$; $70 \pm 2,44$ г/л) по сравнению с контрольной группой.

Полученные результаты показывают, что экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, как и Карсил, способствует частичном у восстановлению функции клеток печени и нормализация содержания общего белка в сыворотке крови в группе экспериментальных животных.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на содержание общего билирубина в сыворотке крови при токсическом гепатите

В некоторых работах показано, что наблюдается нарушение функции печени у подопытных животных в условиях воздействия четыреххлористого углерода. Нарушение функции печени ведёт к блокированию продукции желчного пигмента и выведения желчи в организме, которое способствует повышению билирубина в сыворотке крови и нарушению нормального функционирования гепатобилиарной системы [64].

Достоверное повышение общего билирубина (особенно свободного билирубина), ЩФ-азы указывает не только на выраженный цитолиз, но и на развитие внутрипеченочного холестаза и паренхиматозной желтухи.

В ходе эксперимента установлено, что у животных с поражением печени, отравленных четыреххлористым углеродом, повышался уровень общего билирубина на 25,0% ($20,0 \pm 0,7$ $16,0 \pm 0,52$ мкмоль/л) ($P < 0,03$) по отношению к интактной группе (Рис. 14).

Из анализа результатов, представленных на рисунке 9, видно, что внутрижелудочное введение экстракта лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг достоверно влияет на пигментный обмен в организме, снижая количество общего билирубина в сыворотке крови на 40% ($11,9 \pm 0,52$; $20,0 \pm 0,7$ мкмоль/л) по сравнению с контрольной группой.

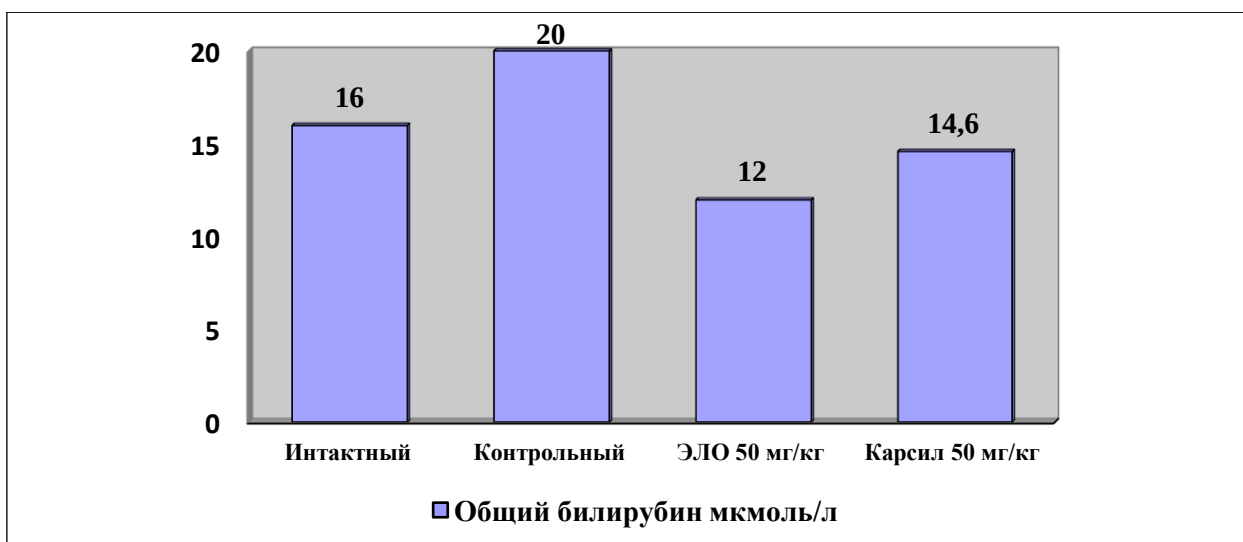


Рисунок 14. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание общего билирубина в сыворотке крови при токсическом гепатите

Это свидетельствует о том, что состав экстракта лагенарии обыкновенной богат биологически активными веществами, которые снижают уровень билирубина в сыворотке крови. В группе сравнения, получавшей известный препарат Карсил, также наблюдалось снижение этого показателя в сыворотке крови на 27% ($14,6 \pm 0,52$; $20,0 \pm 0,7$ мкмоль/л) ($p < 0,02$) по сравнению с контролем.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение экстракта лагенарии обыкновенной, как и Карсил способствуют восстановлению целостности мембран гепатоцитов, а также активизации обмена веществ в клетках, что подтверждается снижением содержания общего билирубина в сыворотке крови.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на содержание холестерина в сыворотке крови при токсическом гепатите

Для выявления состояния липидного обмена и возможности возникновения жировой инфильтрации печени мы изучали липидный спектр сыворотки крови животных, отравленных CCl_4 . Установлено, что у животных с поражением печени, отравленных четыреххлористым углеродом,

содержание общего холестерина в сыворотке крови значительно повышалось.

В группе контрольных животных, получавших четыреххлористый углерод, наблюдалось существенное влияние на общий холестерин в сыворотке крови и повышение его уровня достигло 20,0% ($3 \pm 0,10$; $2,5 \pm 0,1$ ммоль/л) по сравнению с показателями интактной группы (Рис. 15).

В опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, полученные результаты указывают на значительное снижение общего холестерина в сыворотке крови на 23,3% ($2,3 \pm 0,12$; $3 \pm 0,24$ ммоль/л) ($p < 0,01$). по сравнению с контрольной группой.

Благодаря высокому содержанию биологически активных веществ экстракт лагенарии обыкновенной оказывал влияние на восстановление функции печени до нормы.

В группе сравнения животных, получавших известный препарат Карсил в дозе 50 мг/кг, уровень холестерина снизился на 3,3% ($2,21 \pm 0,12$; $3 \pm 0,24$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой.

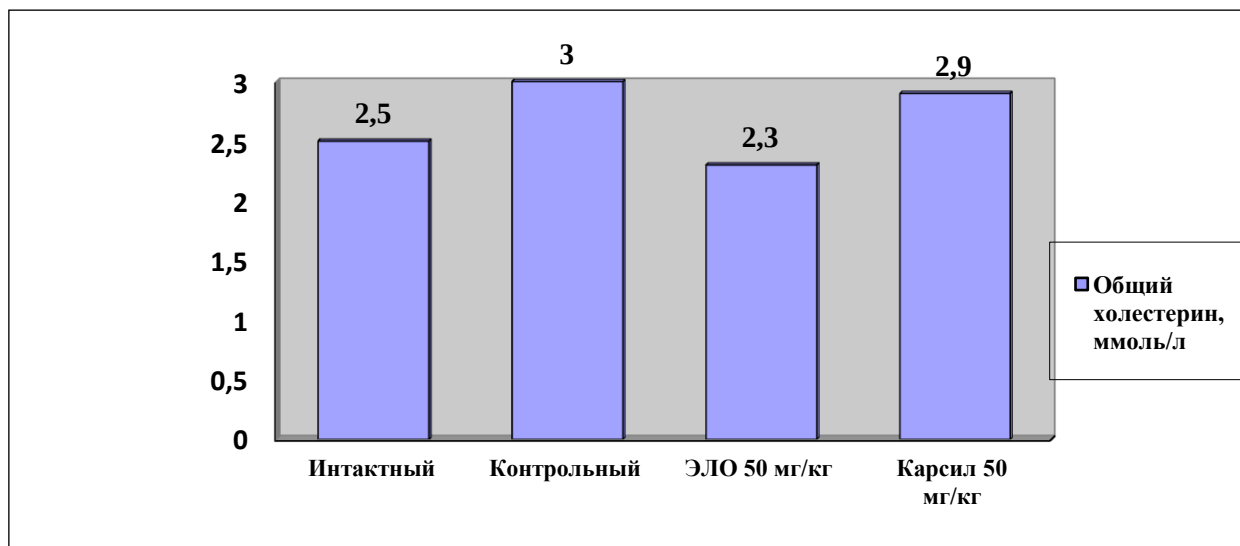


Рисунок 15. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание холестерина в сыворотке крови при токсическом гепатите

Таким образом, в условиях экспериментального гепатита применение ЭЛО способствует большему снижению уровня общего холестерина в сыворотке крови, а также нормализации липидного обмена в печени.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на уровень триглицеридов в сыворотке крови при токсическом гепатите

По данным некоторых источников, повышение триглицеридов связано с стрессовым липолизом (отравленным CCl_4) в жировой ткани и поступлением ВЖК (высшие жирные кислоты) в печень и с последующей этерификаций триглицеридов.

В наших исследованиях показано, что у контрольных животных, отравленных четыреххлористым углеродом, отмечено значительное изменение количества триглицеридов в сыворотке крови, показано повышение его уровня на 72% ($3,84 \pm 0.33$; $2,0 \pm 0.13$ ммоль/л) по сравнению с показателями интактной группы.

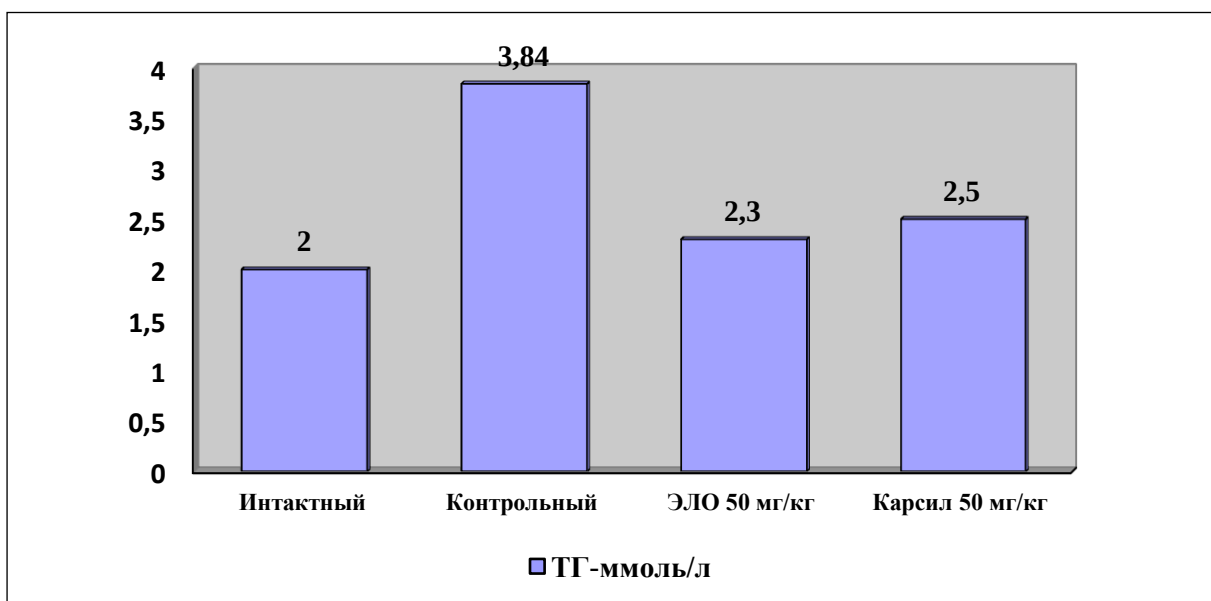


Рисунок 16. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на уровень триглицеридов в сыворотке крови при токсическом гепатите

Согласно данным, представленным на рис. 16, в группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, показано

значительное снижение уровня триглицеридов на 40,1% ($2,3 \pm 0,13$; $3,84 \pm 0,33$ ммоль/л) ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. В группе животных, получавших препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы, уровень триглицеридов снизился на 34,8% ($2,50 \pm 0,16$; $3,84 \pm 0,33$ ммоль/л) по сравнению с контрольной группой. Это подтверждает положительное влияние экстракта лагенарии и «Карсил» на обмен триглицеридов.

Однако более выраженное действие наблюдалось при использовании экстракта лагенарии обыкновенной.

Таким образом, в условиях экспериментального гепатита применение ЭЛО способствует снижению уровня триглицеридов в крови и одновременно приводит к нормализации липидного обмена в печени.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на уровень липопротеины низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови при токсическом гепатите

При внутрижелудочном введении четыреххлористого углерода в дозе 2 мл/кг, наблюдается значительное нарушение липидного обмена у контрольных крыс. В ходе эксперимента было установлено, что у животных контрольной группы, подвергшихся воздействию четыреххлористого углерода, в сыворотке крови отмечаются выраженные изменения в уровнях ЛПНП, которые возросли на 77,9 % ($3,31 \pm 0,23$; $1,86 \pm 0,01$ ммоль/л) по сравнению с показателями интактной группы. (Рис.17).

Из представленных данных на рисунке 17 следует, что в группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, было зафиксировано значительное снижение уровня липопротеины низкой плотности (ЛПНП) на 35,04% ($2,15 \pm 0,06$; $3,31 \pm 0,23$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Препарат «Карсил» в аналогичной дозе 50 мг/кг также способствовал снижению уровня ЛПНП на 35,6% ($2,13 \pm 0,05$; $3,31 \pm 0,23$ ммоль/л) относительно контрольной серии.

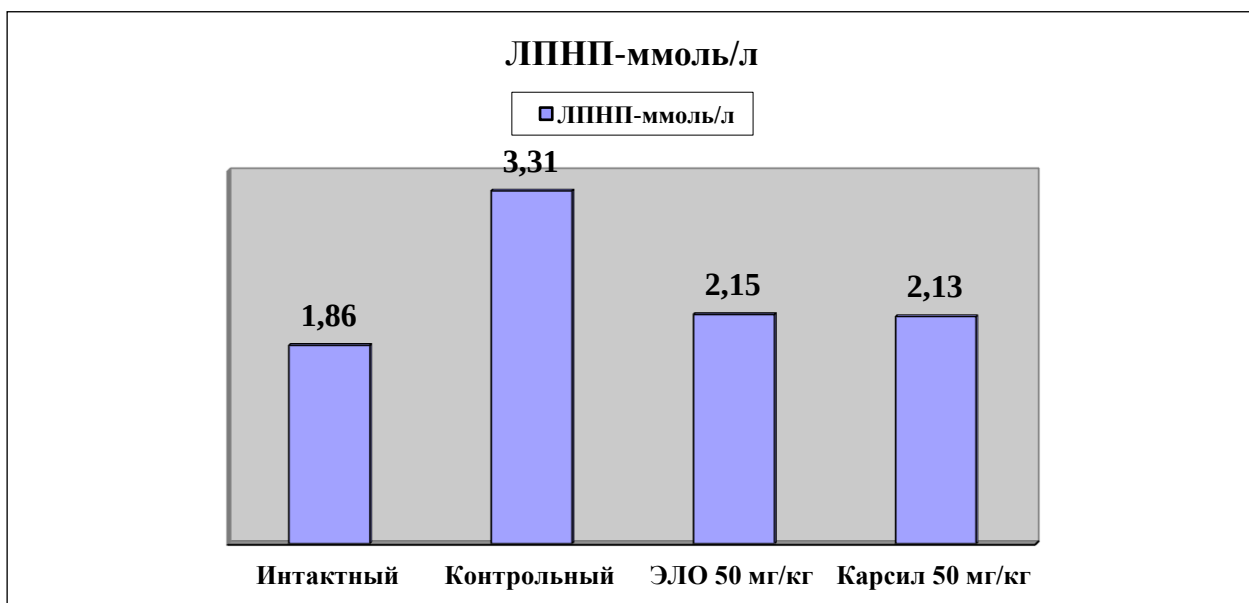


Рисунок 17. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на уровень ЛПНП в сыворотке крови при токсическом гепатите

Полученные исследования показали, что животные, получавшие ЭЛО, имели такой же эффект по сравнению с препаратом Карсил, который снижает уровень ЛПНП в сыворотке крови и одновременно восстанавливает метаболический процесс в печени.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на уровень липопротеины высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови при токсическом гепатите

«Одним из признаков нарушения липидного обмена является токсичное поражение печени»[64], данный процесс нарушения липидного обмена наблюдался в ходе экспериментов на экспериментальных животных преимущественно в контрольной группе.

В контрольной группе животных, отравленных четыреххлористым углеродом, наблюдались изменения уровня ЛПВП в сыворотке крови, что привело к снижению его уровня на 28,3% ($2,33 \pm 0,04$; $3,25 \pm 0,08$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению со здоровой группой (рис. 18).

Повышение общего ХС, ХСЛПНП и одновременное снижение уровня ХС ЛПВП у опытных животных свидетельствует о формировании вторичное

дислипотеинемия. По мнению ряда авторов это связано с низкой активностью фермента лецитинхолестеринацилтрансферазой (ЛХАТ), что обуславливает накоплению неэтифицированных холестерина в липопротеиновых частицах, изменяя их свойства и их обмен между ЛП - комплексами. Эти изменения приводят к нарушению транспорта ХС и его накопления в организме [64].

Из анализа данных на рисунке 18 видно, что в группе животных, получавших экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, наблюдалось достоверное повышение уровня ЛПВП на 33,4% ($3,25 \pm 0,08$; $3,11 \pm 0,06$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Группа сравнения, получавшая препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы тела, увеличила уровень ЛПВП на 30,4% ($3,25 \pm 0,08$; $3,04 \pm 0,05$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой.

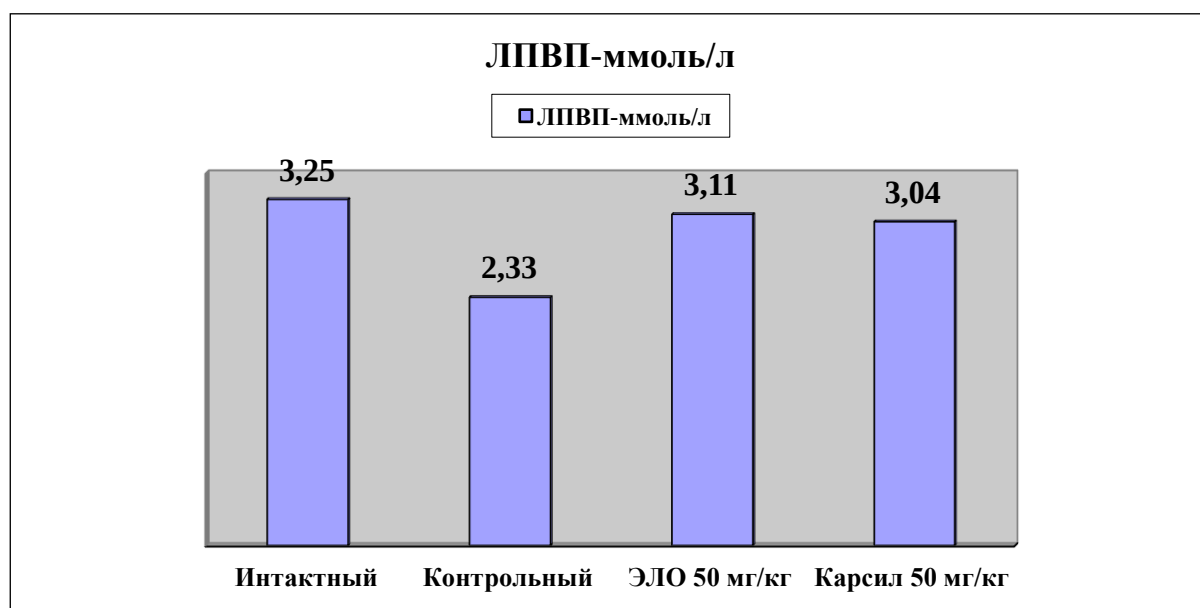


Рисунок 18. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на уровень ЛПВП в сыворотке крови при токсическом гепатите

В группе экспериментальных животных, получавших экстракт лагенарии в дозе 50 мг/кг, и в группе сравнения известный препарат Карсил вводили в дозе 50 мг/кг массы тела. Результаты исследования показали, что

ЭЛО практически идентичен известному препарату Карсил, о чем свидетельствует ЛПВП.

Результаты исследования доказывают о выраженном положительном эффекте экстракт лагенарии и Карсил на показатели липидного обмена у опытных животных с экспериментальной печеночной недостаточностью, с проявлением достоверной тенденции к нормализации исследованных параметров функционального состояния печени и всего организма.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на уровень МДА в сыворотке крови при токсическом гепатите

ПОЛ (Перекисное окисление липидов) является мембранным механизмом, который при нормальных физиологических условиях поддерживается благодаря антиоксидантным системам. Однако при воздействии различных патогенетических агентов и истощение АОС усиливается процессы окисления и наблюдается достоверные изменения в структуре мембран и накопления их метаболитов как диеновые конъюгаты (ДК) и конечные продукт – малоновый диальдегид (МДА).

В настоящее время установлено, что при токсическом гепатите наблюдается усиление процессов ПОЛ в зависимости от стадии поражения гепатоцитов.

«В экспериментах на крысах четыреххлористый углерод приводит к повышенным количествам малонового диальдегида, который является индикатором окислительного стресса (ПОЛ), при котором в организме увеличивается количество свободных радикалов и снижение активности антиоксидантов, что приводит к повреждению клеток, также вызывает токсическое поражение печени» [64], что было подтверждено в экспериментах.

В контрольной группе животных, отравленных четыреххлористым углеродом, произошло значительное изменение МДА в сыворотке крови, его показатель увеличился до 75,6% ($9,31 \pm 0,43$; $5,3 \pm 0,13$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с показателями здоровой группы (рис. 19). Это позволяет

предположить дефекте мембран гепатоцитов, развитию свободнорадикального окисления усилени процессов ПОЛ.

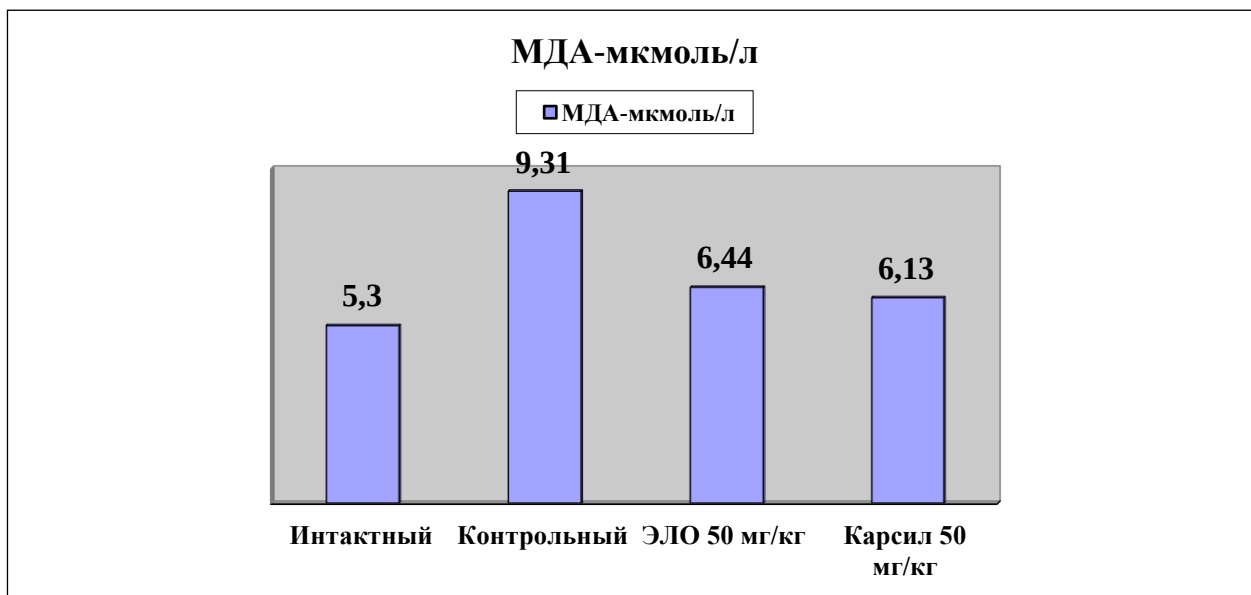


Рисунок 19. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на уровень МДА в сыворотке крови при токсическом гепатите

Как видно из данных на рис. 19 видно, что в группе получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, наблюдалось достоверно снижение уровень МДА на 30,8% % ($6,44 \pm 0,17$; $9,31 \pm 0,43$ мкмоль/л) ($p < 0,01$). по сравнению с контрольной группой. Препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы тела снижал уровня МДА на 34, 15 % ($6,13 \pm 0,11$; $9,31 \pm 0,43$ мкмоль/л) ($p < 0,01$). по отношению к контрольной серии.

Таким образом, в условиях экспериментального гепатита применение ЭЛО и препарата Карсил способствует снижению уровня МДА в крови.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на активность фермента АсАТ в сыворотке крови при токсическом гепатите

«Аспаратаминотрансфераза (АсАТ) — фермент, присутствующий во всех клетках организма, но в основном в сердце и печени, а также в меньшей степени в почках и мышцах. У здоровых пациентов активность АсАТ в крови низкая, т. к. норма АсАТ имеет низкие значения. При повреждении клеток

печени или ткании мышц АсАТ высвобождается, и уровень АсАТ в крови повышается. Следовательно, активность этого фермента является индикатором поражения печени»[64].

Как видно из данных на рисунке 20 у животных контрольной группы, принимающих в/ж через день CCl_4 2 мл/кг массы, активность АсАТ повысилась на 271 % ($230 \pm 5,44$; $62 \pm 1,04$ Ед/л – соответственно с интактной группе ($P < 0,01$)).

Полученные результаты свидетельствуют, что в опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, наблюдалось статистически значимое снижение образования исследуемых ферментов. ЭЛО в дозе 50 мг/кг массы тела снизил активность АсАТ на - 49,1% ($117 \pm 2,3$ $230 \pm 5,44$; Ед/л) по сравнению с контрольной группой ($P < 0,01$), но на 32 % меньше чем активность АлАТ.

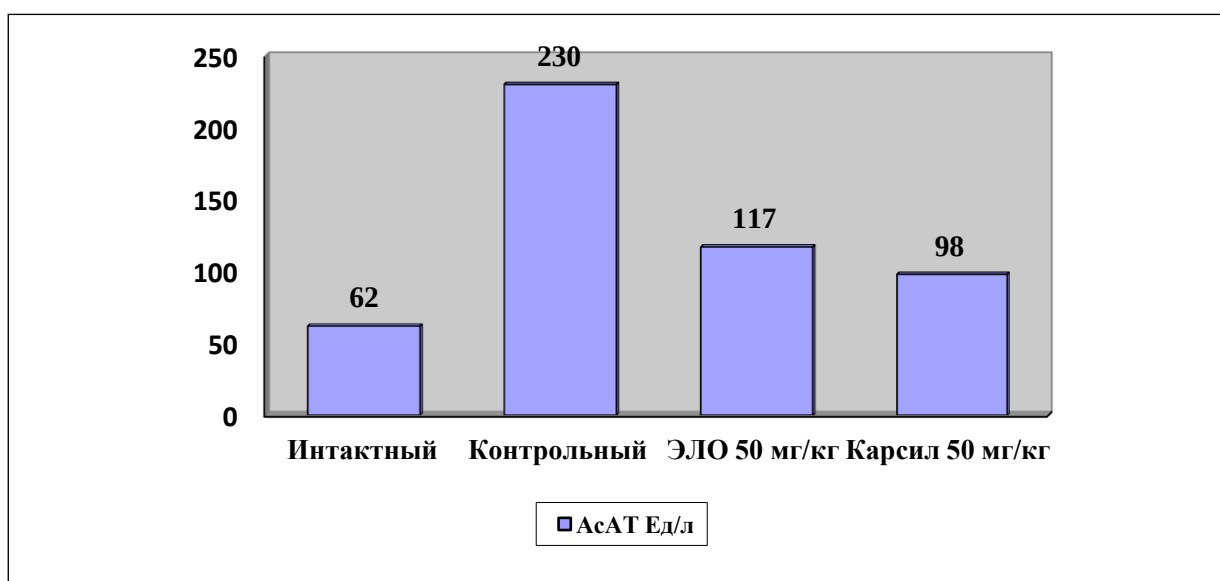


Рисунок 20. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на активность фермента АсАТ в сыворотке крови при токсическом гепатите

В группе сравнения препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы тела снизил активность АсАТ на 57,3% ($98 \pm 1,88$ $230 \pm 5,44$; Ед/л) по сравнению с контрольной группой ($P < 0,01$).

Эксперименты показали, что в группах, получавших экстракт из лагенарии обыкновенной, и группе сравнения, получавшей препарат «Карсила», наблюдалось снижение активности фермента АСАТ в сыворотке крови. Это указывает на то, что состав экстракта лагенарии обыкновенной богаты биологически активными веществами и оказывает высокое гепатопротекторное действие.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на содержание альбумина в сыворотке крови при токсическом гепатите

Анализ полученных результатов указывает, что в опытной группе крыс экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, статистически достоверно ($P < 0,01 - 0,05$) корректировал нарушенный под действием CCl_4 количество альбумина в сыворотке крови. Концентрация альбумина повысилась на 14,6% ($30 \pm 0,68$ $38 \pm 0,76$; Г/л) по отношению контрольной группе. Проведенное 14 - дневное лечение ЭЛО и Карсилом оказали благоприятное влияние на концентрацию альбумина (Рис. 21).

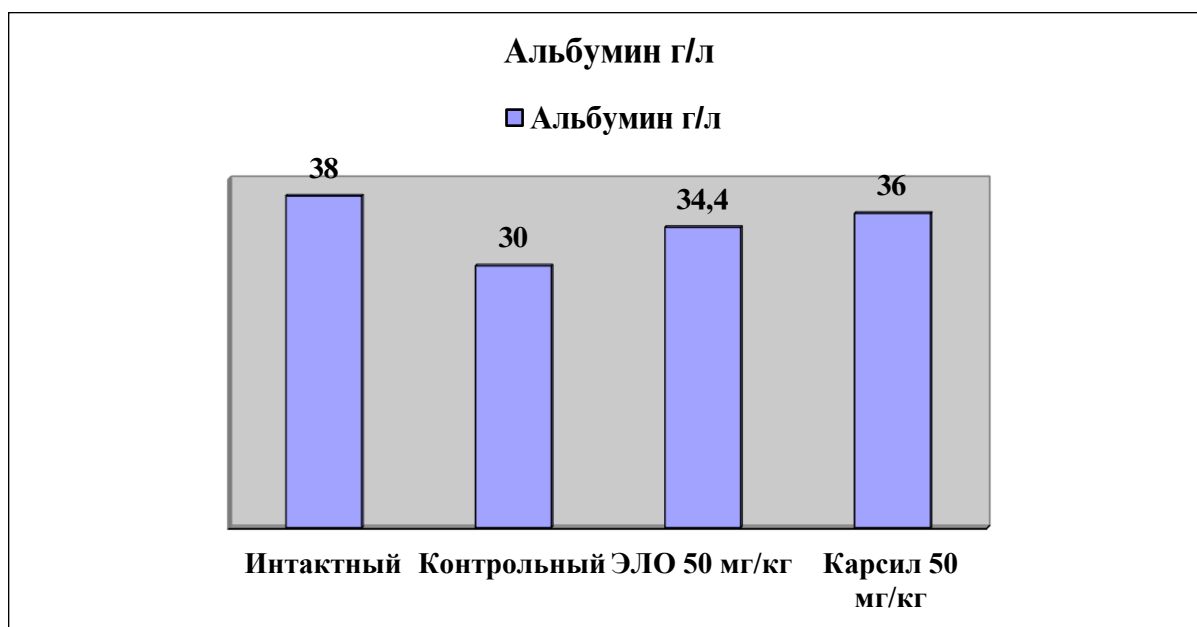


Рисунок 21. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание альбумина в сыворотке крови при токсическом гепатите

Как видно из результатов представленных на рис. 21, концентрация альбумина по действием оптимальных доз ЭЛО почти восстановилась до уровня интактных крыс.

В группе сравнения препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы, повысил концентрацию альбумина на 20,0 % ($36 \pm 0,69$; $30 \pm 0,68$ Г/л) по отношению к контрольной группе.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на содержание амилазы в сыворотке крови при токсическом гепатите.

Острая интоксикация у животных получавших CCl_4 внутрижелудочно в дозе 2 мл/кг веса, вызывала повышенное содержание фермента амилазы поджелудочной железы повысилась на 134,3 %, ($300 \pm 6,01$; $128 \pm 2,32$ Ед/л – соответственно с интактной группе ($P < 0,01$), что говорит о его панкреотоксическом действии (Рис.22).

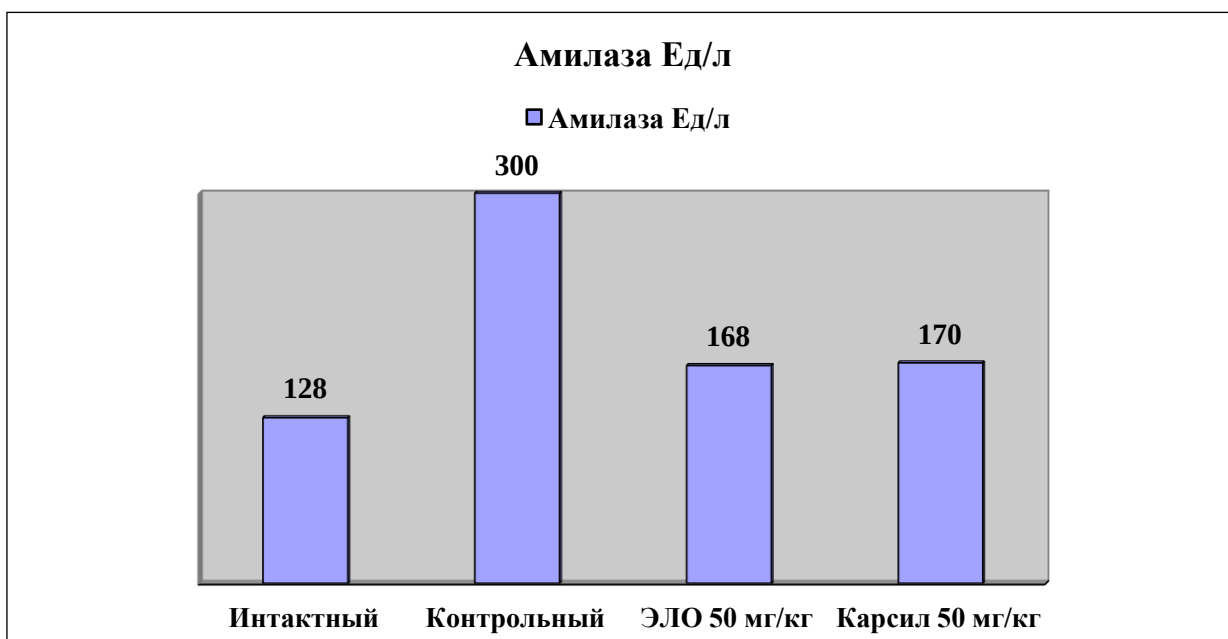


Рисунок 22. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание амилазы в сыворотке крови при токсическом гепатите.

В опытной серии получавших экстракт (1:10) лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, наблюдается улучшение некоторые показатели функции печени у белых крыс также статистически достоверно ($P < 0,01$ -

0,001) корректировал по показателю амилазы на – 47,3% ($168 \pm 2,77$; $300 \pm 6,01$ Ед/л) по отношению к контрольной группе.

Таким образом, в сравнительной группе крыс, получавших препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг с одновременным внутрижелудочным введением CCl_4 из расчета 2 мл/кг масса тела, результаты оказались несколько ниже.

Влияние экстракта лагенарии обыкновенной на содержание креатинина в сыворотке крови при токсическом гепатите

В группе контрольных животных, получавших в/ж через день CCl_4 в дозе 2 мл/кг массы, концентрация креатинина повышалась на 45,3% ($134,4 \pm 2,41$; $92,2 \pm 2,03$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) по отношению к интактной группе.

В опытной серии крыс, получавших CCl_4 из расчёта 2 мл/кг массы и одновременно принимавшие экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг веса, концентрация креатинина снизилась на -32,8% ($90,2 \pm 1,93$; $134,4 \pm 2,41$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) по отношению к контрольной группе (Рис.23).

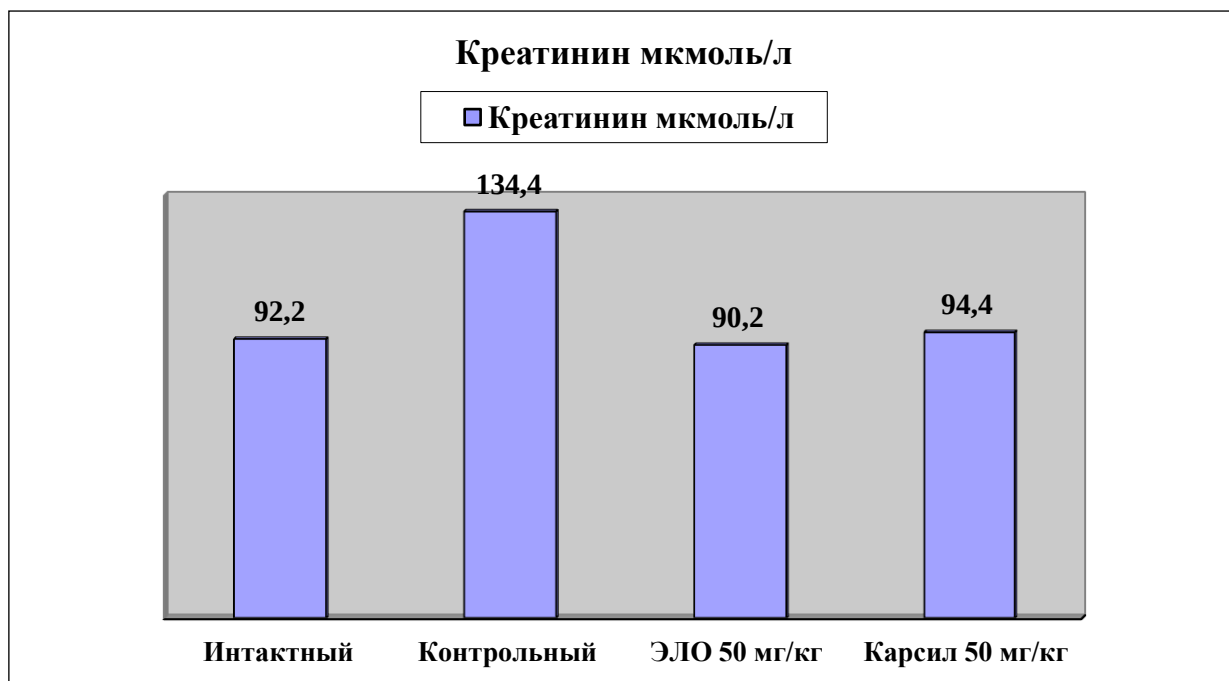


Рисунок 23. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание креатинина в сыворотке крови при токсическом гепатите

В сравнительной группе крыс, при терапии препаратом «Карсил» в дозе 50 мг/кг концентрация креатинина снизилась на 14,7% ($94,4 \pm 2,04$; $134,4 \pm 2,41$ мкмоль/л) по отношению к контрольной группе.

Таким образом, растворенный в дистиллированной вода сухой экстракт плодов лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, выступил не только как гепатопротектор, но и оказал существенное нефропротекторное действие, улучшив в почках функцию клубочковой фильтрации.

Влияние экстракт лагенарии обыкновенной на содержание мочевины в сыворотке крови при токсическом гепатите

При токсическом отравлении CCl_4 в дозе 2 мл/кг массы, у контрольных животных, уровень мочевины сыворотки крови повысился на 17,2% ($10,2 \pm 0,22$; $8,7 \pm 0,1$ ммоль/л) ($p < 0,01$) в сравнении с показателями интактной группы животных (Рис.24).

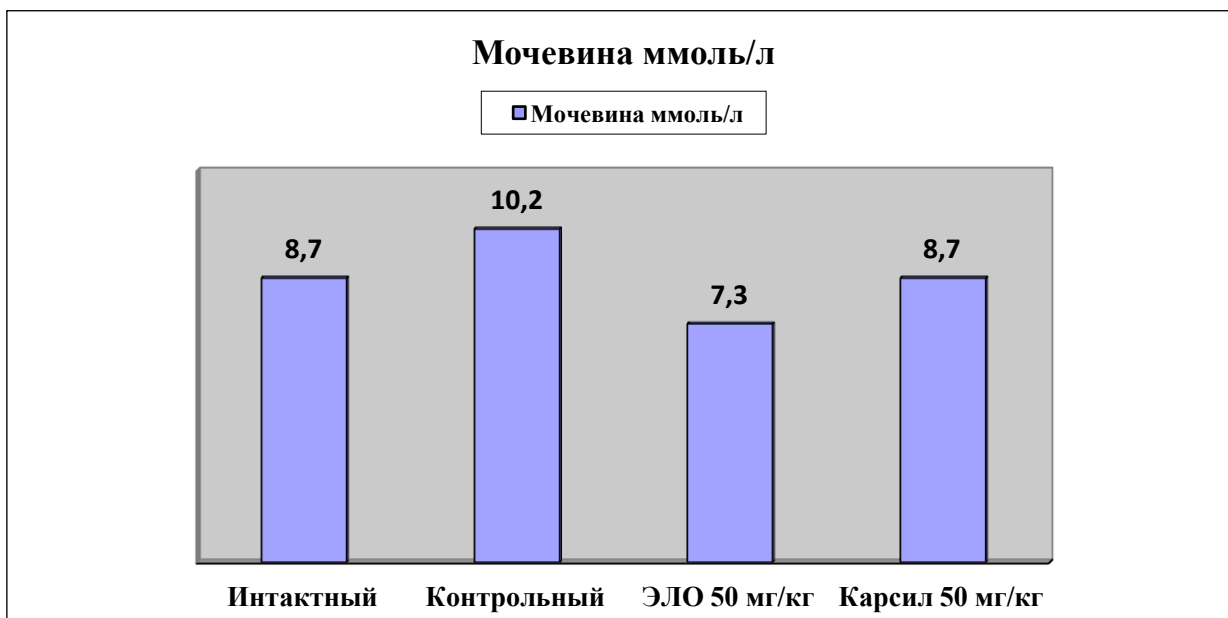


Рисунок 24. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание мочевины в сыворотке крови при токсическом гепатите

Мочевина является одним из показателей функциональной способности печени и почек. Как показывают представленные данные (рисунок 23), при остром отравлении тетрахлорметаном в опытной группе при приеме экстракта лагенарии обыкновенной концентрация мочевины снизилась на 28,4% ($7,2 \pm 0,09$; $10,2 \pm 0,22$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. В сравнительной группе крыс при лечении препаратом «Карсил» в дозе 50 мг/кг концентрация мочевины снизилась на 14,7% ($8,7 \pm 0,1$; $10,2 \pm 0,22$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной серией.

Проведенное экспериментальное исследование на острую токсичность исследуемого препарата доказывает о безвредности экстракта лагенарии обыкновенной. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии у экстракта лагенарии обыкновенной нефротоксического действия.

Таким образом, экстракт плодов лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела оказывал выраженное гепатопротекторное и нефропротекторное действие.

Влияние экстракта лагенарии обыкновенной на содержание мочевой кислоты в сыворотке крови при токсическом гепатите

При остром отравлении CCl_4 в дозе 2 мл/кг массы тела у контрольных животных концентрация мочевой кислоты увеличилась на 23,0% ($438 \pm 7,10$; $356 \pm 5,12$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению со здоровыми показателями.

Как видно из представленных данных (рисунок 24), при остром отравлении тетрахлорметаном в опытной серии при приеме экстракта лагенарии обыкновенной концентрация мочевой кислоты снизилась на 27,8,0% ($316 \pm 4,32$; $438 \pm 7,10$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной серией. В сравнительной серии крыс при лечении препаратом «Карсил» в дозе 50 мг/кг концентрация мочевой кислоты снизилась на 29% ($311 \pm 4,25$; $438 \pm 7,10$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной серией.

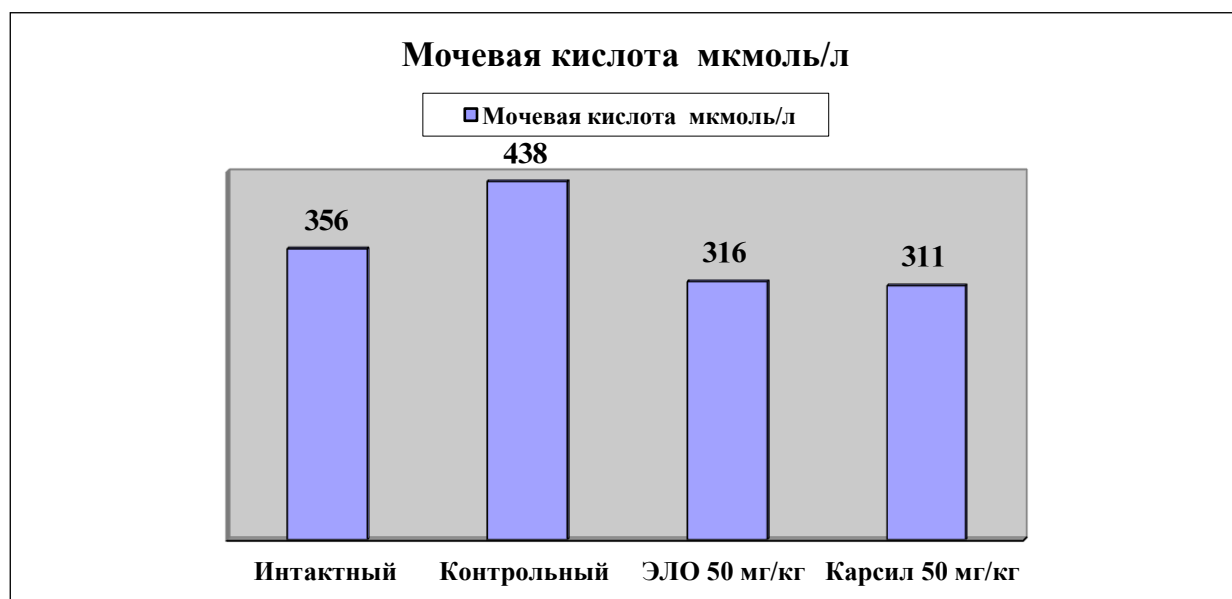


Рисунок 25. - Влияние экстракта лагенарии обыкновенной и карсила на содержание мочевой кислоты в сыворотке крови при токсическом гепатите

Таким образом, сухой экстракт (1:10) плодов лагенарии обыкновенной, растворенный в дистиллированной воде в дозе 50 мг/кг массы тела, оказал выраженное гепатопротекторное действие.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

«Печень — жизненно важный орган, играющий важную роль в поддержании различных биохимических и физиологических процессов в организме. Он участвует во многих важных функциях, таких как обмен веществ, секреция и хранение. Он играет важную роль в детоксикации и выведении многих экзогенных и эндогенных соединений. Таким образом, любое повреждение или нарушение функции имеет серьезные последствия для здоровья пострадавшего человека. Сообщается, что ежегодно от цирроза печени, вызванного гепатитом, умирает около 18 000 человек, хотя вирусные инфекции являются одной из основных причин поражения печени. Он действует как резервуар для хранения различных белков, гликогена, витаминов и минералов. Он также играет роль в регуляции объема крови, транспортируя кровь из воротной вены в системный кровоток и эндотелиальную ретикулярную систему, а также участвует в иммунном механизме. Человеческий организм распознает почти все лекарственные препараты как чужеродные вещества (т. е. ксенобиотики) и подвергает их различным химическим процессам (например, метаболизму), чтобы сделать их пригодными для выведения. Сюда входит химическая модификация для (1) снижения растворимости липидов и (2) изменения биологической активности. Хотя почти все ткани организма обладают некоторой способностью метаболизировать химические вещества, гладкий эндоплазматический ретикулум в печени является основным «метаболическим центром обмена веществ» как для эндогенных (например, холестерина, стероидных гормонов, жирных кислот и белков), так и для экзогенных (например, лекарств) химических веществ). Ключевая роль, которую печень играет в очистке и метаболизме химических веществ, также делает ее восприимчивой к лекарственным препаратам» [175].

«Гепатит — воспаление печени, характеризующееся наличием воспалительных клеток в тканях органа. Существует пять основных вирусов, называемых типами А, В, С, D и Е. Эти пять вызывают наибольшую

озабоченность из-за бремени заболеваемости и смертности. Заболевание может быть самоизлечивающимся (излечиться само по себе) или может прогрессировать до фиброза (рубцевания) и цирроза. Гепатит может протекать с ограниченными симптомами или бессимптомно, но часто вызывает желтуху, анорексию (плохой аппетит) и вялость. Гепатит считается острым, если он длится менее 6 месяцев, и хроническим, если сохраняется дольше. проблемы с печенью, в том числе паразиты и вирусные инфекции; аутоиммунные заболевания; и интоксикация различными ксенобиотиками, такими как алкоголь, фототерапия, наркотики, хлорированные растворители, пероксидные кислоты, грибковые токсины, промышленные загрязнители и радиоизотопы. В частности, типы А и С вызывают хронические заболевания у сотен миллионов людей и вместе являются наиболее распространенными причинами цирроза и рака печени» [175].

В настоящее время на основе лекарственных растений созданы эффективные гепатопротекторы, которые широко используются в гепатологии. В связи с тем, что в Таджикистане произрастает огромное количество лекарственных растений, содержащих биологически активные соединения, микроэлементы и витамины, то имеется реальная возможность в разработке новых высокоэффективных гепатопротекторов на основе отечественного растительного сырья.

В Центре инновационной биологии и медицины НА Республики Таджикистан проведены исследования гепатопротекторных и противовирусных свойств плодов лагенарии обыкновенной. Водно-спиртовая настойка плодов лагенарии обыкновенной, содержит флавоноиды, тритерпеновые гликозиды, сапонины, эфирные нелетучие масла, витамины, микроэлементы, такие как цинк и селен. Лагенария обыкновенная обладает выраженными гепатопротекторными свойствами, и может быть широко рекомендована в клинической практике [92].

На основании проведенных экспериментов было доказано, что наиболее подходящим экстрагентом для получения фитотерапевтического

препарата из мякоти лагенарии обыкновенной (*LS*), произрастающей в Таджикистане, является этанол в концентрации 30%, наиболее приемлемый размер частиц для этого сырья - 3 мм, а наиболее приемлемое время экстракции - 120 мин.

Из результатов анализов, представленных на рисунке 1, видно, что максимальное количество экстрактивных веществ, полученных с использованием этилового спирта концентрацией 30% и 40%, составляют 34,04% и 32,06% соответственно. Это свидетельствует о том, что наибольшее количество биологически активных веществ содержится в 30% спиртовом растворе, в состав которого входит большое количество экстрактивных веществ. К ним относятся такие вещества, как водорастворимые витамины, аминокислоты, углеводы и фенольные соединения, содержащиеся в экстракте лагенарии. Небольшое количество экстрактивных веществ, полученных при экстракции 90% этиловым спиртом, составило 18,35%, что соответствует извлечению жирорастворимых компонентов из лагенарии. К этим веществам относятся такие компоненты, как каротиноиды, жирорастворимые витамины А, D, E, К и др., стероиды, фитол и эфирные масла.

В составе настойки лагенарии в большом количестве имеется множество биологически активных веществ типа сапонинов, флавоноидов, кумаринов, гликозидов, а также в незначительной степени присутствуют витамины, минералы и аминокислоты. Подобное сочетание биологически активных веществ с витаминами, минералами и аминокислотами в составе Лагенарии обыкновенной позволяет предложить ее для всестороннего фармакологического исследования в качестве эффективного полиорганного и в частности, гепатопротективного средства.

Можно отметить, что в составе лагенарии обыкновенной обнаружены практически все биологически активные соединения, действие которых влияет на повышение иммунного статуса. Дальнейшее изучение биологически активных соединений в составе лагенарии и проведение

опытов на животных позволят создать лекарственные средства, обладающие как гепатопротекторными свойствами для лечения заболеваний вирусного гепатита, так и средства, обладающие полиорганым протекторным действием.

Результаты исследования, проведенные с использованием спектрофотометрического метода экстракта Лагенарии обыкновенной с различной концентрацией спирта 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 и 90% в соотношении 1: 100. Показали, что 30% спирт по сравнению с другими концентрациями для извлечения флавоноидов из мякоти плода лагенарии составляет до 0,57% по сравнению с рутином.

Таким образом, в ИК – спектрах выделенных гидрооксифлавоноидов характерные полосы поглощения при 1267 и 1018 см^{-1} для полиолов (C-O), 1079 и 1049 см^{-1} для спиртовых групп (C-O) около 920 см^{-1} кислотных групп (-COOH), $\text{CH}=\text{CH}_2$ полос поглощения 890 и 870 см^{-1} для сахаридов. Можно заключить, что фенольные соединения входящие в состав исследованных образцов, указывают на валентные колебания ароматических (C-C)- связей, ассоциированных OH-групп. Спектры полосы между 1800 и 600 см^{-1} позволяют идентифицировать профили конкретных полос, которые типичны для гидроксилных групп ароматических молекул в экстрактах полифенолов. Спектры полифенолов показывают характерные области поглощения $3400\text{--}3100\text{ см}^{-1}$ для гидроксильных групп (OH), 2972 и 2928 см^{-1} (C-H) для сахаридов или гликозидных группах. Полоса поглощения 1691 см^{-1} это валентных колебаний групп (C = C) в ароматических кольцах, а полосы поглощения при 1587 , 1566 , 1398 и 1388 см^{-1} в карбоновой кислоте или сложноэфирных группах т.е. (-COO-).

Проведено изучение острой токсичности экстракта мякоти Лагенарии обыкновенной. Летальная доза экстракта Лагенарии обыкновенной при которой гибнет 50% подопытных животных при оральном введении составила $3354,1\text{ мг/кг}$. В соответствии с модифицированной классификацией «Организации экономического содействия и развития»,

настойку Лагенарии можно отнести к V классу опасности, т.е. практически нетоксичным препаратом, что позволяет судить о безопасности данного вида лекарственного сырья, и дает основания для дальнейших исследований.

Впервые в условиях Таджикистан установлен факт влияния настойки мякоти лагенарии на уровень ДНК вируса гепатита В, а именно снижение репликации ДНК вируса и вирусемии. Эти данные получены на экспериментальной модели вирусного гепатита «В» с использованием метода генетического анализа – полимеразной цепной реакции (ПЦР). Таким образом, при внутрижелудочном введении настойки лагенарии наблюдается уменьшение степени вирусемии и снижение активности ферментов у опытных групп животных по отношению к контрольной группе. Это косвенно свидетельствует о действии препарата на вирус и уменьшении его отрицательного влияния на функцию печени. В определенной степени это говорит о цитопротективном его свойстве по отношению к клеткам печени, что свидетельствует о перспективном использовании экстракта лагенарии как лекарственного (гепатопротекторного) средства

В процессе исследований выяснилось, что в состав экстракта лагенарии обыкновенной входят значительное количество биологически активных веществ типа сапонинов, флавоноидов, гликозидов, а также в незначительной степени витамины, минералы, кумарины и аминокислоты. Подобное сочетание биологически активных веществ с витаминами, минералами и аминокислотами в составе лагенарии обыкновенной позволяет предложить ее для всестороннего фармакологического исследования в качестве эффективного гепатопротективного средства. Установлено, что экстракт лагенарии содержит антиоксиданты, которые существенно снижают токсическое воздействие тетрахлорида углерода CCl_4 , блокируя вредное воздействие свободных радикалов на гепатоциты. Наряду с этим ингибируется перекисное окисление липидов, снижаются активность Аспартатаминотрансферазы и Аланинаминотрансферазы, а также количество малонового диальдегида в сыворотке крови. Благодаря высокому

содержанию биологически активных веществ в экстракте лагенарии обыкновенной, ткань печени постепенно восстанавливает свои функции до нормы. Исследованный препарат извлечённый из лагенарии является хорошим своеобразным «буфером» при токсической свободнорадикальной атаке тетрахлорида углерода на печень и кроветворные органы. Танины, сапонины, флавоноиды содержащиеся в препарате лагенарии активно участвуют в блокировании токсических эффектов действия тетрахлорида углерода (CCl_4). Вследствии хронического введения препарата лагенарии, улучшается регенераторная функция печеночной ткани, т.е. активизируется митотическое деление гепатобластов. Наряду с этим наличие витаминов группы «В» в данном препарате благотворно влияет на кроветворную систему экспериментальных животных, что заметно выяснилось на восстановлении показателей красной крови и устранение сопутствующей анемии. Использование препарата лагенарии, при гепатитах различной этиологии, происходит полная активация фермента супероксиддисмутаза, которая инактивирует свободные радикалы разрушающие гепатоциты, также параллельно тормозится цепная реакция поражения гепатоцитов от свободных радикалов, известно, что устранение воспалительных процессов в экстрацеллюлярной фазе, блокирование свободных радикалов токсического агента за счёт церулоплазмينا, который соединяет между собой супероксиды $\text{HO}_2\cdot + \text{HO}_2\cdot = \text{H}_2\text{O}_2 = \text{O}_2$ тем самым сохраняет целостность гепатоцитов и является своеобразным щитом от токсического воздействия тетрахлорида углерода на печень экспериментальных животных. Ремиссия организма и восстановление нормальных функций печени, происходит за счёт сохранения неповреждённых гепатоцитов при действии повреждающих факторов. Проведение терапии экстрактом лагенарии, показало также характерное увеличение эозинофилов крови, которые активно поглощают медиаторы воспаления повреждённой печени. Параллельно с этим ускоряются процессы пролиферации печёночной ткани.

Исследование препарата лагенарии, также выявило ингибирование процесса гемолиза эритроцитов, биологически активные соединения препарата в какой-то степени способствуют сохранению целостности эритроцитов и в некоторой степени защищают их от токсического разрушения при действии тетрахлорида углерода.

Полученные результаты показывают, что в опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, активность фермента АлАТ снизилась на 52,8% ($132 \pm 5,05$; $280 \pm 9,2$ Ед/л) по сравнению с контрольной группой. Препарат «Карсил» оказал практически такое же действие, при котором активность фермента АлАТ снизилась до 57,3% ($115 \pm 4,77$; $280 \pm 9,2$ Ед./л) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, можно заключить, что при введении экстракта лагенарии животным подвергавшимся токсическому воздействию CCl_4 наблюдалось значительное уменьшение содержания АлАТ, что свидетельствует о ускорении процессов восстановления структуры гепатоцитов.

При воздействии четыреххлористого углерода у экспериментальных животных, вызвавшего токсическое поражение печени, наблюдалось структурное повреждение гепатоцитов, что привело к патологическим процессам и дисфункции печени, что может быть следствием увеличения содержания щелочной фосфатазы в сыворотке крови.

В группе контрольных животных, получавших внутрижелудочно четыреххлористый углерод, активность фермента щелочной фосфатазы в сыворотки крови увеличилась на 116,0% ($540,0 \pm 15,0$; $250,0 \pm 8,6$ Е/л) по сравнению с группой интактных животных. Это позволяет предположить, что причиной повышения активности щелочной фосфатазы сыворотки крови является развитие обструкции внутриклеточных протоков.

Благодаря высокому содержанию биологически активных веществ в экстракте лагенарии обыкновенной, ткань печени частично восстанавливает свои функции. Исследованный экстракт, приготовленный из лагенарии,

может играть роль «буфера» при токсической свободнорадикальной атаке тетрахлорида углерода на печень и кроветворные органы.

Анализ полученных результатов указывает, что в опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, активность щелочной фосфатазы уменьшилась на 27,9% ($389,6 \pm 10,6$; $540,0 \pm 15,0$ Е/л) по сравнению с контролем.

В группе сравнения животных, которым вводили известный препарат Карсил в дозе 50 мг/кг массы тела, активность щелочной фосфатазы снизилась на 25,9% (400 ± 11 ; $540,0 \pm 15,0$; Е/л) по сравнению с контрольной группой.

Проведенные анализы показали, что в группе экспериментальных животных, введение экстракта лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, наблюдалось повышение устойчивости гепатоцитов к патологическим воздействиям и восстановление нарушенных функций клеток печени, что подтверждалось снижением активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови животных.

Экспериментальный гепатит вызывали внутрижелудочным введением 50% масляного раствора CCl_4 в дозе 2 мл/кг.

Установлено, что токсическое поражение печени CCl_4 у экспериментальных крыс приводит к разрушению общего белка в печени.

Согласно результатам, отравление крыс CCl_4 приводит к снижению уровня общего белка в сыворотке крови контрольных животных.

Из результатов, представленных на рис. 13, следует, что концентрация общего белка в опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, практически достигла уровня интактных крыс ($74,2 \pm 2,52$ г/л). В группе сравнения, получавшей известный препарат Карсил в дозе 50 мг/кг, содержание общего белка увеличилось на 5 % ($73,5 \pm 2,2$; $70 \pm 2,44$ г/л) по сравнению с контрольной группой.

Полученные результаты показывают, что экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, как и Карсил, способствует

частичном у восстановлению функции клеток печени и нормализация содержания общего белка в сыворотке крови в группе экспериментальных животных.

В некоторых работах показано, что наблюдается нарушение функции печени у подопытных животных в условиях воздействия четыреххлористого углерода. Нарушение функции печени ведёт к блокированию продукции желчного пигмента и выведения желчи в организме, которое способствует повышению билирубина в сыворотке крови и нарушению нормального функционирования гепатобилиарной системы [64].

Достоверное повышение общего билирубина (особенно свободного билирубина), ЩФ-азы указывает не только на выраженный цитоллиз, но и на развитие внутрипеченочного холестаза и паренхиматозной желтухи.

В ходе эксперимента установлено, что у животных с поражением печени, отравленных четыреххлористым углеродом, повышался уровень общего билирубина на 25,0% (20.0 ± 0.7 16.0 ± 0.52 мкмоль/л) ($P < 0,03$) по отношению к интактной группе.

Из анализа результатов, представленных на рисунке 9, видно, что внутрижелудочное введение экстракта лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг достоверно влияет на пигментный обмен в организме, снижая количество общего билирубина в сыворотке крови на 40% ($11,9 \pm 0,52$; $20,0 \pm 0,7$ мкмоль/л) по сравнению с контрольной группой.

Это свидетельствует о том, что состав экстракта лагенарии обыкновенной богат биологически активными веществами, которые снижают уровень билирубина в сыворотке крови. В группе сравнения, получавшей известный препарат Карсил, также наблюдалось снижение этого показателя в сыворотке крови на 27% ($14,6 \pm 0,52$; $20,0 \pm 0,7$ мкмоль/л) ($p < 0,02$) по сравнению с контролем.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение экстракта лагенарии обыкновенной, как и Карсил способствуют восстановлению целостности мембран гепатоцитов, а также активизации

обмена веществ в клетках, что подтверждается снижением содержания общего билирубина в сыворотке крови.

Для выявления состояния липидного обмена и возможности возникновения жировой инфильтрации печени мы изучали липидный спектр сыворотки крови животных, отравленных CCl_4 . Установлено, что у животных с поражением печени, отравленных четыреххлористым углеродом, содержание общего холестерина в сыворотке крови значительно повышалось.

В группе контрольных животных, получавших четыреххлористый углерод, наблюдалось существенное влияние на общий холестерин в сыворотке крови и повышение его уровня достигло 20,0% ($3 \pm 0,10$; $2,5 \pm 0,1$ ммоль/л) по сравнению с показателями интактной группы.

В опытной группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, полученные результаты указывают на значительное снижение общего холестерина в сыворотке крови на 23,3% ($2,3 \pm 0,12$; $3 \pm 0,24$ ммоль/л) ($p < 0,01$). по сравнению с контрольной группой.

Благодаря высокому содержанию биологически активных веществ экстракт лагенарии обыкновенной оказывал влияние на восстановление функции печени до нормы.

В группе сравнения животных, получавших известный препарат Карсил в дозе 50 мг/кг, уровень холестерина снизился на 3,3% ($2,21 \pm 0,12$; $3 \pm 0,24$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, в условиях экспериментального гепатита применение ЭЛО способствует большему снижению уровня общего холестерина в сыворотке крови, а также нормализации липидного обмена в печени.

По данным некоторых источников, повышение триглицеридов связано с стрессовым липолизом (отравленным CCl_4) в жировой ткани и поступлением ВЖК (высшие жирные кислоты) в печень и с последующей этерификаций триглицеридов.

В наших исследованиях показано, что у контрольных животных, отравленных четыреххлористым углеродом, отмечено значительное изменение количества триглицеридов в сыворотке крови, показано повышение его уровня на 72% ($3,84 \pm 0,33$; $2,0 \pm 0,13$ ммоль/л) по сравнению с показателями интактной группы.

Согласно данным, представленным на рис. 16, в группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, показано значительное снижение уровня триглицеридов на 40,1% ($2,3 \pm 0,13$; $3,84 \pm 0,33$ ммоль/л) ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. В группе животных, получавших препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы, уровень триглицеридов снизился на 34,8% ($2,50 \pm 0,16$; $3,84 \pm 0,33$ ммоль/л) по сравнению с контрольной группой. Это подтверждает положительное влияние экстракта лагенарии и «Карсил» на обмен триглицеридов.

Однако более выраженное действие наблюдалось при использовании экстракта лагенарии обыкновенной.

Таким образом, в условиях экспериментального гепатита применение ЭЛО способствует снижению уровня триглицеридов в крови и одновременно приводит к нормализации липидного обмена в печени.

При внутрижелудочном введении четыреххлористого углерода в дозе 2 мл/кг, наблюдается значительное нарушение липидного обмена у контрольных крыс. В ходе эксперимента было установлено, что у животных контрольной группы, подвергшихся воздействию четыреххлористого углерода, в сыворотке крови отмечаются выраженные изменения в уровнях ЛПНП, которые возросли на 77,9 % ($3,31 \pm 0,23$; $1,86 \pm 0,01$ ммоль/л) по сравнению с показателями интактной группы. Из представленных данных на рисунке 17 следует, что в группе, получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, было зафиксировано значительное снижение уровня липопротеины низкой плотности (ЛПНП) на 35,04% ($2,15 \pm 0,06$; $3,31 \pm 0,23$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Препарат «Карсил» в аналогичной дозе 50 мг/кг также способствовал

снижению уровня ЛПНП на 35,6% ($2,13 \pm 0,05$; $3,31 \pm 0,23$ ммоль/л) относительно контрольной серии.

Полученные исследования показали, что животные, получавшие ЭЛО, имели такой же эффект по сравнению с препаратом Карсил, который снижает уровень ЛПНП в сыворотке крови и одновременно восстанавливает метаболический процесс в печени.

«Одним из признаков нарушения липидного обмена является токсичное поражение печени»[64], данный процесс нарушения липидного обмена наблюдался в ходе экспериментов на экспериментальных животных преимущественно в контрольной группе.

В контрольной группе животных, отравленных четыреххлористым углеродом, наблюдались изменения уровня ЛПВП в сыворотке крови, что привело к снижению его уровня на 28,3% ($2,33 \pm 0,04$; $3,25 \pm 0,08$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению со здоровой группой.

Повышение общего ХС, ХСЛПНП и одновременное снижение уровня ХС ЛПВП у опытных животных свидетельствует о формировании вторичное дислипидотеинемии. По мнению ряда авторов это связано с низкой активностью фермента лецитинхолестеринацилтрансферазой (ЛХАТ), что обуславливает накоплению неэтирфицированных холестерина в липопротеиновых частицах, изменяя их свойства и их обмен между ЛП - комплексами. Эти изменения приводят к нарушению транспорта ХС и его накопления в организме [64].

Из анализа данных на рисунке 18 видно, что в группе животных, получавших экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, наблюдалось достоверное повышение уровня ЛПВП на 33,4% ($3,25 \pm 0,08$; $3,11 \pm 0,06$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Группа сравнения, получавшая препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы тела, увеличила уровень ЛПВП на 30,4% ($3,25 \pm 0,08$; $3,04 \pm 0,05$ ммоль/л) ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой.

В группе экспериментальных животных, получавших экстракт лагенарии в дозе 50 мг/кг, и в группе сравнения известный препарат Карсил вводили в дозе 50 мг/кг массы тела. Результаты исследования показали, что ЭЛО практически идентичен известному препарату Карсил, о чем свидетельствует ЛПВП.

Результаты исследования доказывают о выраженном положительном эффекте экстракт лагенарии и Карсил на показатели липидного обмена у опытных животных с экспериментальной печеночной недостаточностью, с проявлением достоверной тенденции к нормализации исследованных параметров функционального состояния печени и всего организма.

ПОЛ (Перекисное окисление липидов) является мембранным механизмом, который при нормальных физиологических условиях поддерживается благодаря антиоксидантным системам. Однако при воздействии различных патогенетических агентов и истощение АОС усиливается процессы окисления и наблюдается достоверные изменения в структуре мембран и накопления их метаболитов как диеновые конъюгаты (ДК) и конечные продукт – малоновый диальдегид (МДА).

В настоящее время установлено, что при токсическом гепатите наблюдается усиление процессов ПОЛ в зависимости от стадии поражения гепатоцитов.

«В экспериментах на крысах четыреххлористый углерод приводит к повышенным количествам малонового диальдегида, который является индикатором окислительного стресса (ПОЛ), при котором в организме увеличивается количество свободных радикалов и снижение активности антиоксидантов, что приводит к повреждению клеток, также вызывает токсическое поражение печени» [64], что было подтверждено в экспериментах.

В контрольной группе животных, отравленных четыреххлористым углеродом, произошло значительное изменение МДА в сыворотке крови, его показатель увеличился до 75,6% ($9,31 \pm 0,43$; $5,3 \pm 0,13$ мкмоль/л) ($p < 0,01$) по

сравнению с показателями здоровой группы (рис. 19). Это позволяет предположить дефекте мембран гепатоцитов, развитию свободнорадикального окисления усилени процессов ПОЛ. В группе получавшей экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, наблюдалось достоверно снижение уровень МДА на 30,8% % ($6,44 \pm 0,17$; $9,31 \pm 0,43$ мкмоль/л) ($p < 0,01$). по сравнению с контрольной группой. Препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы тела снижал уровня МДА на 34, 15 % ($6,13 \pm 0,11$; $9,31 \pm 0,43$ мкмоль/л) ($p < 0,01$). по отношению к контрольной серии.

Таким образом, в условиях экспериментального гепатита применение ЭЛО и препарата Карсил способствует снижению уровня МДА в крови.

Анализ полученных результатов указывает, что в опытной группе крыс экстракт лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы, статистически достоверно ($P < 0,01 - 0,05$) корректировал нарушенный под действием CCl_4 количество альбумина в сыворотке крови. Концентрация альбумина повысилась на 14,6% ($30 \pm 0,68$ $38 \pm 0,76$; Г/л) по отношению контрольной группе. Проведенное 14 - дневное лечение ЭЛО и Карсилом оказали благоприятное влияние на концентрацию альбумина

Как видно из результатов представленных на рис. 20, концентрация альбумина по действием оптимальных доз ЭЛО почти восстановилась до уровня интактных крыс. В группе сравнения препарат «Карсил» в дозе 50 мг/кг массы, повысил концентрацию альбумина на 20,0 % ($36 \pm 0,69$; $30 \pm 0,68$ Г/л) по отношению к контрольной группе.

Таким образом, растворенный в дистиллированной вода сухой экстракт плодов лагенарии обыкновенной в дозе 50 мг/кг массы тела, выступил не только как гепатопротектор, но и оказал существенное нефропротекторное действие, улучшив в почках функцию клубочковой фильтрации.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что наиболее подходящим экстрагентом для извлечения экстракта лагенарии является 30%- ный этанол, наиболее приемлемый размер частиц для сырья - 3 мм, а наиболее приемлемое время экстракции - 120 мин [1-А, 8-А, 10-А, 13-А, 16-А].
2. Установлено, что в составе экстракта лагенарии содержатся такие биологически активные вещества как сапонины, флавоноиды и гликозиды, а также в незначительной степени витамины, минералы, кумарины и аминокислоты [1-А, 8-А, 10-А, 13-А, 16-А].
3. Установлена нетоксичная доза настойки мякоти лагенарии обыкновенной, используемая в эксперименте, которая составляла 2000 мг/кг. Настойку лагенарии можно отнести к V классу опасности. Она нетоксична и безопасна и дает основания для дальнейших исследований [3-А, 12-А].
4. Впервые, с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) установлено влияние настойки лагенарии на уровень ДНК вируса гепатита В, выявлено снижение репликации ДНК вируса и понижение уровня виремии [5-А, 14-А].
5. Исследования показали, что применение экстракта лагенарии обыкновенной значительно снижает активность ферментов, участвующих в процессе переаминирования, снижает уровень билирубина и щелочной фосфатазы, а также восстанавливает обменные процессы в печени при токсическом гепатите [6-А, 9-А, 15-А, 17-А].
6. Полученные результаты свидетельствуют о выраженной гепатопротекторной активности экстракта лагенарии обыкновенной при токсическом поражении печени на экспериментальных моделях, что позволяет обосновать проведение доклинических исследований, направленных на разработку новых гепатопротекторных средств. Проведёнными исследованиями установлено, что экстракт лагенарии по гепатопротекторным свойствам не уступает используемому в клинической практике препарату «Карсил». [6-А, 9-А, 15-А, 17-А].

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРАКТИЧЕСКОМУ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Экстракт мякоти и настойка лагенарии обыкновенной могут быть рекомендованы в качестве биологически активной добавки (БАД) для лечения и профилактики патологий гепатобилиарной системы, в том числе вирусного гепатита В.

2. Полученные результаты могут быть использованы при чтении лекций, спецкурсов по биохимии, фармакологии и физиологии в ВУЗ-ах Республики Таджикистан.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- [1]. Абдуллаев, Н.Х. Печень при интоксикациях гепатотропными ядами [Текст] /Н.Х. Абдуллаев, Х.Я. Каримов. – Ташкент : Медицина, 1989. -96 с.
- [2]. Абу Райхан Беруни. Фармакогнозия избранные произведения [Текст] / том 4. Ташкент. Фан. - 1973. – 1120с.
- [3]. Абуали ибни Сино. Канон врачебной науки. [Текст] / Т.2. Душанбе: Дониш, 2012. – 810с.
- [4]. Ажгихин, И.С. Технология лекарств. Москва «Медицина» [Текст] / И.С. Ажгихин, 1975 г – С.449-481.
- [5]. Ажгихин, И.С. Руководство к практическим занятиям и технологии лекарств. [Текст] / И.С. Ажгихин. - М.: Медицина, 1977. - 384 с.
- [6]. Азонов, Дж.А. Фармакология гераноретинола и эфирных масел: дисс. докт. мед. наук [Текст] / Дж.А.Азонов. – Санкт-Петербург, 1995. – 260с.
- [7]. Алексеева, И.Н. Печень и иммунологическая реактивность [Текст] / И.Н. Алексеева., Т.М. Брызгана С. И. Павлович Н.В. Ильчевич. - К.: Паукова думка, 1991. -168 с.
- [8]. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма [Текст] / А.В. Арутюнян Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина // СПб.: ИКФ «Фолиант». 2000.-104с.
- [9]. Арчаков, А.И. Молекулярные механизмы взаимодействия четыреххлористого углерода с мембранами эндоплазматического ретикулума печени [Текст] / А.И. Арчаков, Н.Н. Карузина // Успехи гепатологии. - Рига.: Знание. -1973. -Т.4. -С. 39-59.
- [10]. Балаховский, И. С. Лабораторные методы исследования в клинике [Текст] / И.С.Балаховский. - М.: - 1987. – 437с.
- [11]. Балаян, М.С., Михайлов М.И. Энциклопедический словарь - вирусные гепатиты [Текст] / М.С.Балаян, М.И. Михайлов // 2-е

издание. - М.: Амипресс, 1999.— 301 с.

[12]. Барабой, В.А. Растительные фенолы и здоровье человека [Текст] / М.: Наука, 1984. - 358 с.

[13]. Белобородова, Э.И., Саратиков А. С., Венгеровский А.И., Шаловой А.А. //Клин, мед. — 2000. — Т. 78, Ns 6. - С. 56-57.

[14]. Бердымухамедов, Г.М. Лекарственные растения Туркменистана [Текст] / Г. М. Бердымухаммедов. - Ашхабад: 2009. – 342с.

[15]. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути их предупреждения и лечения) [Текст] / М. В. Биленко. – М.: Медицина, 1989. – 367.

[16]. Болотов, Б.В. Здоровье человека в нездоровом мире [Текст] / Б.В. Болотов. - СПб.: Питер 2006. –327с.

[17]. Бочалов, В.И. Авиценна (Ибн Сина) о сохранении здоровья [Текст] / В.И. Бочалов. - Воронеж. – 2011. – 487с.

[18]. Брем, А. Путешествие по Африке. 1855год. [Текст] / А. Брем. - Переиздано М.:Эксмо, 2011. - 474с.

[19]. Буеверов, А.О. Оксидативный стресс и его роль в повреждении печени [Текст] / А.О. Буеверов // Российский журнал гастроэнтрологии, гепатологии, колопроктологии. 2002.- №4. С 21-25.

[20]. Вагнер, Е.И. Гиппократ – отец медицины [Текст] / Е.И. Вагнер, А.А. Судакова //Бюллетень медицинских интернет – конференций. – 2013. - Т.3. №11. – С.1293.

[21]. Венгеровский, А.И. Механизм действия гепатопротекторов при токсических поражениях печени [Текст] / А.И.Венгеровский, А.С. Саратиков // Фармакология и токсикология. – 1988. – Т. 51. – № 1. – С. 89-93.

[22]. Владимиров, Ю.А., Свободные радикалы и антиоксиданты [Текст] / Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН. – 1998.- №7. – С. 43-51.

- [23]. Воронина, Т. А., Гипоксия и память. Особенности применения ноотропных препаратов [Текст] /Т.А. Воронина // Вестник РАМН. – 2000.- №9. – С. 27 – 34.
- [24]. Вульф, Е. В., *Lagenaria Ser.* — Горлянка [Текст] / Е. В. Вульф, О. Ф. Малеева //Мировые ресурсы полезных растений, Л.: Наука, 1969. — 568с.
- [25]. Габдрахманова, И.Д. Влияние сукцината 1,3,6,- триметил- 5 – гидрокси-урацила для на антиоксидантную и свободнорадикальные процессы в печени взрослых и старых крыс при воздействии тетрахлорметана [Текст] / И.Д. Габдрахманова, В.А. Мышкин Д.А. Еникеев, А.Р. Гимадиева // Патологическая физиология и экспериментальная терапия, 2018, т. 62, №3, с. 56-60.
- [26]. Ганиев Н.Х. Влияние растительного лекарственного сбора «Гепатрил» на функциональные показатели печени при экспериментальном токсическом гепатите, вызванном CCL₄. [Текст] / Н.Х. Ганиев, М.М.Якубова, Г.К. Мироджов, М.К. Курбонов, Б.И. Сафаров //Пробл. ГАЭЛ, 2018. - №2. - С. 45-49.
- [27]. Горбарец И.П. Отдаленные исходы острых вирусных гепатитов В, С и D. [Текст] / И.П. Горбарец, Т.Л. Яшина // Всерос.науч. - практ.конф. «Гепатит В, С и D — проблемы изучения, диагностики лечения, профилактики». — 20-22 июня. - Москва., 1995. - с.39.
- [28]. Горлянка, Большая советская энциклопедия [Текст] / М.: «Советская энциклопедия», 1969—1978 гг.
- [29]. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV издание. - Том XIV. Москва 2018. 6343-6350 с.
- [30]. Губский, Ю.И. Коррекция химического поражения печени [Текст] / Ю.И. Губский // Киев: Здоровья, 1989, - 166 с.
- [31]. ГФ XI, вып. 2, с. 149.
- [32]. Джамиллов, М. А. Особенности клинического течения Hbeag-положительного и HBeAg-негативного варианта хронического вирусного

гепатита «В» В Таджикистане [Текст] / М. А. Джамилов // автореферат. дис. ... канд. мед. наук: 14. 01. 21– Д., 2010.- 3 с.

[33]. Доркина, Е.Г. Изучение гепатозащитного действия природных флавоноидных соединений [Текст] / Е.Г. Доркина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2004. С. 41-45.

[34]. Дубинина Т.Л. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса [Текст] Т.Л. Дубинина / Вопросы медицинской химии. – 2001. - №6. – С. 561 – 581.

[35]. Дустхох, Дж. Авесто [Текст] / Дж. Дустхох // Д.: Конуният, 2001. - 792с.

[36]. Ивашкин В.Т., Маевская М.В. Алкогольно-вирусные заболевания печени [Текст] / В.Т. Ивашкин, М.В. Маевская // М.: Литерра, 2007.- 160 с.

[37]. Источник:<https://kopilca.ru/lagenariya-primenenie-v-kulinarii-medici-ne>

[38]. Источник:<https://polzaili.ru/lagenariya-poleznye-i-vrednye-svoystva-sostav-primenenie>.

[39]. Ишанкулова Б.А. Фармакология некоторых сахароснижающих лекарственных растений Таджикистана [Текст] / Б.А. Ишанкулова // Душанбе 2015. - С 56-59.

[40]. Ишанкулова, Б.А. Вклад Абуали ибни Сино в развитие фармакологии Таджикистана [Текст] / Б.А. Ишанкулова // Ж. «Вестник Авиценны». – Душанбе. 2014. - №2. – С.131-135.

[41]. Ишанкулова, Б.А. Курс лекций по фармакотерапии [Текст] / Б.А. Ишанкулова // Д.: типография ТГМУ им. Абуали ибни Сино; 2017. - 137с.

[42]. Кирсанова, В. Ф. Интродукция тыквенных культур на агробиологической станции БГПУ [Текст] / В. Ф. Кирсанова // Краеведение Приамурья. — 2010. — № 4(13). — Р. 13-19.

- [43]. Кичунов, Н. И. Овощные культуры «Полная энциклопедия русского сельского хозяйства» [Текст] / Н.И. Кичунов // Том IX – СПб, : изд-во А.Ф. Девриена, 1905, -1392с.
- [44]. Колб, В.Г. Справочник по клинической биохимии / В.Г.Колб, В.С. Камышникова. – Минск, 2003. С.130-144.
- [45]. Компендиум, М.С. лекарственные препараты [Текст] / В.Н. Коваленко, А.П. Викторова // Под ред.– К.: Морион, 2006. – С. 2270.
- [46]. Королева Р.Л., Современные гепатопротекторы [Текст] / Л.Р. Королева // Российский медицинский журнал. – 2005.- № 2.- С. 35- 37
- [47]. Корсун В.Ф. Лекарственные растения в гепатологии [Текст] / Изд. дош. «Русский врач», Москва, 2005, 274 с.
- [48]. Корсун, В.Ф. Фитотерапия: традиции российского травничества [Текст] / В.Ф. Корсун, Е.В. Корсун // М.: Эксмо., 2010. –860с.
- [49]. Курбанов М. Эффективность применения препаратов синотека полученного из лагинарии обыкновенной в терапии больных острым вирусным гепатитом (ОВГ). [Текст] / Камардинов Х.К., Ганиев Н.Х. // Пробл. ГАЭЛ, 2015, №2 с. 31-34.
- [50]. Курбанов М.К. Способ лечения вирусного гепатита” [Текст] / Х.Х. Мансуров и др. // Патент РТ, TJ№333.
- [51]. Курбонов М.К. Противовирусные действия некоторых лекарственных растений [Текст] / М.К. Курбонов, Г.К. Мироджов, С.Д. Исупов, Ишанкулова Б.А. //Пробл. ГАЭЛ, 2011. - №1. - С. 38-45.
- [52]. Куркин В.А. Расторопша пятнистая – источник лекарственных средств (обзор) [Текст] / В.А. Куркин // Хим.-фарм. журн. – 2003. – № 4. – С. 27-41.
- [53]. Куценко С.А. Основы токсикологии [Текст] / С.А. Куценко // СПб.: Фолиант, 2004 – 720 с.
- [54]. Кононков П. Ф Лагенария длинноплодная [Текст] / П. Ф. Кононков Д. Д. Брежнев // Овощеводство в субтропиках и тропиках. Учебник для высших сельскохозяйственных учебных заведений, М.:

«Колос», 1977 г., 255 с.

[55]. Лесиовская, Е.Е. Фармакотерапия с основами фитотерапии [Текст] / Е.Е.Лесиовская, Л.В. Пастушенков // М.: Гэотар-Медиа; 2012. - 590с.

[56]. Лисицын, Ю.П. История медицины [Текст] / Ю.П. Лисицын // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 400с.

[57]. Лужников, Е. А. Неотложные состояния при острых отравлениях (дагностика, клиника, лечение) [Текст] / Е.А. Лужников, Ю.Н. Остапенко, Г.Н. Суходолова // М. : Мед. Практика – М,2001, - 220 с.

[58]. Мазнев Н.И. Высокоэффективные лекарственные растения. Большая энциклопедия народной медицины [Текст] / Н.И. Мазнев // Москва 2013 – с 592.

[59]. Мансуров Х.Х. Достижения и перспективы развития гастроэнтерологии в Таджикистане [Текст] / Х.Х. Мансуров Г.К. Мироджов // Проблемы ГАЭЛ, 2012. №3, - с. 3-10.

[60]. Мансуров Х.Х. Опыт лечения больных хроническим вирусным гепатитом В [Текст] / Х.Х. Мансуров Г.К. Мироджов Ф.Х. Мансурова // Проблемы ГАЭЛ, 2007, №4.- с.141-143.

[61]. Мансуров, Х.Х. Некоторые особенности течения и лечения больных хроническим гепатитом В при суперинфекции вируса [Текст] / Х.Х. Мансуров Г.К. Мироджов Х.К. Рахимова З.М. Абдуллаева //Пробл. ГАЭЛ, 2007, №1-2, -С. 33-38.

[62]. Мансурова И. Д. Экспериментальная патология печени [Текст] / Душанбе – 1976 г. С 7 – 17.

[63]. Машковский, М.Д. Лекарственные средства [Текст] / М.: Медицина, 2002, 463 с.

[64]. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике [Текст] / В.В. Меньшиков // М.: Медицина, 1987. – 356с.

[65]. Меньщикова, Е.Б. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты [Текст] / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков //

М.: Слово, 2006, - 556 с.

[66]. Минушкин, О.Н. Некоторых гепатопротекторы в лечение заболеваний печени [Текст] / О.Н. Минушкин // Лечащий врач. - 2002. - №6. – С. 55-58.

[67]. Мироджов Г.К., Азимова С.М. Хронический гепатит С [Текст] / Г.К., Мироджов С.М. Азимова // Душанбе. «Андалеб - Р» 2015г. с 87.

[68]. Мироджов Г.К., Курбонов М.К., Зубайдова. Т.М., Шамсиддинов Ш.Н., Самандаров Н.Ю. Патент TJ538 МПК [2012,01] A61K36/00. Противовирусное Средство «Гепатоман» для лечения гепатита С. от 26.04.2012.

[69]. Мироджов, Г.К. Цитокины и нарушения углеводного обмена при ожирении [Текст] / Г.К., Мироджов, Д.М., Мирзоев, Н.С. Тухтаева // Проблемы гастроэнтерологии, 2016. №3. С. 25-30.

[70]. Мироджов, Г.К., Состояние и перспективы разработки новых фитогепатопротекторов [Текст] / Г.К. Мироджов, М.М. Якубова, М.О. Убайдулло, М.К. Курбонов, Р.А. Ашурова // Пробл. ГАЭЛ, 2018. № 3. .С. 57-61.

[71]. Мироджов Г.К. Поиск и перспектива использования новых гепатопротекторов растительного происхождения. [Текст] / М.М.Якубова, М.Курбонов, Б.А. Ишанкулова, Н.Х. Ганиев // Пробл. ГАЭЛ, 2015, №1. С. 3-8.

[72]. Мышкин, В.А. Полихлорированные бифенилы: моделирование и патогенез гепатотоксического действия [Текст] / В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев, Р.Б. Ибатуллина // Вестник Российской академии естественных наук. – 2007. – Т. 7 №2.- С. 46-51.

[73]. Мышкин, В.А. Церебро-гепатопротекторная активность комплексного соединения янтарной кислоты с 1,3,6- триметил-5-гидроксиурацилом при экспериментальной интоксикации натрия нитритом [Текст] / В.А. Мышкин, Д.А. Еникеев, И.Д. Габдрахманова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.-2018. - №4.-

С. 163 – 167.

[74]. Назаров, М.Н. Атласи рустаниҳои шифобахши Тоҷикистон [Текст] / М.Н. Назаров, Н.М. Назаров // Душанбе: ДДТТ, 2018. – 224с.

[75]. Никитин И. Г. Гепатопротекторы: мифы и реальные возможности [Текст] / Никитин И. Г. // Фарматека 2007; 13: С. 14—18.

[76]. Никитина, И.Л. Антитоксические свойства нового индуктора микросомальной системы гепазана [Текст] / И.Л. Никитина, И.Р. Газизова, Е.К. Алехин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. - №5. – С. 96 – 98.

[77]. Новикова Л. А. Каталог видов покрытосеменных растений гербария имени И. И. Спрыгина (Часть 3) // Известия ПГПУ им. В.Г. Белинского.. — 2012. — № 29. — Р. 9–91.

[78]. Нуралиев, Ю.Н. Когда и почему сок плодов лимона – Citrus Limon (L.) становятся предиабетогенами [Текст] / Ю.Н. Нуралиев, М.У. Шарофова, Х.А. Ганиев // Практическая фитотерапия. – 2012. - №2. – С.36 – 42.

[79]. Нуралиев, Ю.Н. Медицина эпохи Саманидов [Текст] / Ю.Н. Нуралиев // Д.: Деваштич. – 2003. - 200с.

[80]. Перечня: Lagenaria siceraria (Molina) Standl., ГОСТ ISO 1991-2-2014 Овощи. Номенклатура. Часть 2. Второй список.

[81]. Печенкина, И.Г. Гистоморфологическая оценка гепатопротекторного действия фитоадаптогенов при токсическом поражении печени мышей четыреххлористым углеродом на фоне интенсивной физической нагрузки [Текст] / И.Г. Печенкина С.В., Козин Д.В. Буланов // Вестник Волг ГМУ. – 2014. – Вып. 2 (50). – С. 78-81.

[82]. Рамазова, Ч.Н. Гепатопротекторное действие нового сбора из растительного сырья в сравнении с препаратом «карсил» [Текст] / Ч.Н. Рамазова П.Л. Анатольева К.С. Валерьевич // Научно – практическая конференция «Новые химико – фармацевтические технологии».

Казань. Республика Татарстан. Россия. Бутлеровские сообщения. 2014. -Т. 38. -№4.- С 63.

[83]. Вышковского, Г.Л. Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств [Текст] / Г.Л. Вышковского // Под ред.- М.: РЛС-2007, 2006. – 1488 с.

[84]. Рыжикова М.А. Влияние водных извлечений из некоторых растений на процессы свободнорадикального окисления [Текст] / М.А. Рыжикова Р.Р. Фархутдинов С.В. Сибиряк, Ш. 3. Загидуллин //Эксперим. клин, фармакол. — 1999. Т. 62, № 2. — С. 36-38.

[85]. Саттаров, Д.С. Растаниҳои шифобахш [Текст] / Д.С. Саттаров. // Д.: «Нур-Print», 2013. - 124с.

[86]. Серов, В.В. Хронический вирусный гепатит [Текст] / В.В. Серов, З.Г. Апросина // М.: Медицина, 2002, 384 с.

[87]. Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: [Текст] / Соколов С.Я // Руководство для врачей. – М.: Мед. информац. Агентство, 2000. – 976 с.

[88]. Соколов, С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика [Текст]/ С.Я.Соколов// - М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 976с.

[89]. Соромотина, Т.В. Редкие огородные культуры от а до я Справочник [Текст] / Т.В. Соромотина// Пермь ИПЦ «Прокрость»2016. С113

[90]. Тохири, М. Фитотерапия и народная медицина эпохи Авиценны [Текст] / М.Тохири // Материалы IV—го международного конгресса. — 2010. - С. 396.

[91]. Тиунов, Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты [Текст] / Л.А. Тиунов // Вестник РАМН. – 1995. - №3. – С. 9 – 13.

[92]. Убайдулло М.О. Содержание биологически активных веществ в составе лагенарии обыкновенной (*lagenaria siceraria* (Mol.) Stendl

- [Текст] / Убайдулло М.О. М.М, Якубова М.К. Курбонов // Известия Академии наук Республики Таджикистан. №4 (199). 2017, с.36-40.
- [93]. Ушкалова Е.А. Проблемы применения гепатопротекторов // Фарматека [Текст]/ Ушкалова Е.А // 2004. — № 4. — С. 45-55.113.
- [94]. Флора Таджикской ССР [Текст] / - Л.: Наука,1988, т.9, с. 145-146.
- [95]. Хайдаров, К.Х. Лечебные растения Таджикистана [Текст] / К.Х.Хайдаров // Душанбе: Ирфон, 1988. – 88с.
- [96]. Ходжиматов, М. Дикорастущие лекарственные растения Таджикистана [Текст] / М. Ходжиматов// Душанбе: Гл. научн. ред. Тадж. Сов. Энциклопедии, 1989. – 365с.
- [97]. Цаценко, Л.В. Лагенария (lagenaria) – иконография, распространение, многоцелевое использование [Текст] / Л.В. Цаценко //Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2014. – №101(07). С. 358 – 366. – IDA [article ID]: 0841210029. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2014/07/pdf/61.pdf> у.п.л.
- [98]. Цаценко, Л.В. Анализ изображения лагенарии (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) в живописи как источник информации для истории интродукции и археогенетики культуры [Текст] / Л.В. Цаценко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2013. – №03(087). С. 169 – 181. – IDA [article ID]: 0871303011. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2013/03/pdf/11.pdf>, 0,812 у.п.л.
- [99]. Цаценко, Л.В. Изображение растений, как материал для анализа в генетике и селекции [Текст] / Цаценко Л.В// Ламберт Академик Пресс. Германия.-2014.- 85с.
- [100]. Цаценко, Л.В. Иллюстрации в науке и образовании [Текст] / Цаценко Л.В., Лиханская Н.П.,Фисенко Г.В// Краснодар, КубГАУ.

2013. – 67с.

[101]. Шаханина, И.Л. Экономические потери от инфекционной заболеваемости в России: величины и тенденции [Текст] / Шаханина, И.Л., Осипова Л.А// Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2005, №4, с. 19-25.

[102]. Шахгильдян, И.В. Современная эпидемиологическая характеристика парентеральных вирусных гепатитов (гепатитов В и С) в Российской Федерации [Текст] / Шахгильдян И.В., Михайлов М.И., Хухлович П.А., Онищенко Г.Г. // VI Всерос. науч. - практ. конф. «Вирусные гепатиты - проблемы эпидемиологии, диагностики, лечения и профилактики». - М., 2005, с.380-384.

[103]. Шахгильдян, И.В. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика) [Текст]/ Шахгильдян, И.В., Михайлов М.И., Онищенко Г.Г// М., 2003, с. 171-236.

[104]. Шифф, Ю.Р. Болезни печени по Шиффу. Алкогольные, лекарственные, генетические и метаболические заболевания / Ю.Р. Шифф, М.Ф. Сорелл, У. С. Меддрэй; пер. с англ. под ред. Н.А. Мухина [и др.]. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2011. – 476 с.

[105]. Шульпекова, Ю.О. Флавоноиды расторопши пятнистой в лечении заболеваний печени [Текст] / Ю.О. Шульпекова // Русский мед. журн. — 2004. — Т. 12, Ns 5. — С. 248-250.

[106]. Ющука, Н.Д. Инфекционные болезни: Национальное руководство [Текст] / Н.Д. Ющука, Ю.Я.Венгерова // Под ред.– М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009, 1056 с.

[107]. Ющука, Н.Д., Климова Е.А. Вирусные гепатиты. Клиника, диагностика, лечение [Текст] / Н.Д. Ющука, Е.А. Климова // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 160 с.

[108]. Яковлева, Л.В., Бунятян Н.Д., Герасимова О.А. и др. // Эксперим. клин, фармакол [Текст] / Л.В. Яковлева Н.Д. Бунятян, О.А Герасимова // 1998. — Т. 61, Ns 6. — С. 48-50.

- [109]. Anaga, AO., et al. "Investigation of the aqueous fruit extract of *Lagenaria siceraria* for pharmacological activities in-vitro and in-vivo" [Text] / A.O. Anaga // International Journal of Current Research 8.2 (2011).
- [110]. Anamika, K. Immunomodulatory effects of two sapogenins 1 and 2 isolated from *Luffa cylindrica* in Balb [Text] / / K.G. Anamika, G. Amit, P.W. Basanti // C mice. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007. 17:1608–1612.
- [111]. Anonymous 1986. The useful plants of India. Council of Science and Industrial Research, New Delhi: Publication and Information Directorate
- [112]. Anonymous. Wealth of India (Raw Materials). 1966; Vol. 6. Council of Science and Industrial Research, New Delhi: Publication and Information Directorate.
- [113]. Arutjunyan, A.V. Disturbances of diurnal rhythms of biogenic amines in hypothalamic nuclei as an evidence of neurotropic effect of 1,2 – dimethylhydrazine [Text] / A.V. Arutjunyan, L.O. Kerkeshko, V.N. Anisimov // Neuroendocrinol. Lett. 2001.- Vol. 22, №4. – P. 161 – 163.
- [114]. Asl M. N. Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds [Text] / M. N. Asl, H. Hosseinzadeh // Phytother. Res. 2008;22: 709—724.
- [115]. Balekar, N.S. Screening methods for immunomodulatory agents—a review [Text] / N.S. Balekar, D.K. Jain. // Indian Drugs 2006. 43:525–534.
- [116]. Baranawska, M.K. High performance chromatographic determination of flavone C-glycosides in some species of Cucurbitaceae family [Text] / / M.K. Baranawska, W. Cisowski. // J. Chromatograph. 1994. A675: P. 240–243.
- [117]. Berkson B.M. A conservative triple antioxidant approach to the treatment of hepatitis C. Combination of alpha lipoic acid, silymarin, and selenium three case histories Med. [Text] / / B.M. Berkson // Klin. – 1999. – V. 94. – P. 84 – 89.2
- [118]. BVS. Lakshmi. Hepatoprotective activity of *Lagenaria siceraria* fruit extracts against carbontetrachloride-induced hepatic damage in rats [Text] /

B.VS. Lakshmi, P Uday Kumar, N Neelima, V Umarani, M Sudhakar // January – March 2011 RJPBCS Volume 2 Issue 1 Page No. 130-137.

[119]. Chopra, R.N. Supplement to glossary of Indian medicinal plants [Text] / R.N., Chopra, I.C. Chopra, B.S. Verma. // 1992 CSIR, New Delhi, India.

[120]. Lavanchy, D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control [Text] / D. Lavanchy // Measures. Journal of Viral Hepatitis, 2004, 11, 97-107.

[121]. Deshpande, J.R. Beneficial effects of *Lagenaria siceraria* (Mol.) Standley fruit epicarp in animal models [Text] / J.R., Deshpande, A.A. Choudhry, M.R. Mishra, V.S. Meghre, S.G. Wadohkar, and A.K. Dorle // 2008. Ind. J. Expt. Biol. 46:P. 234–242.

[122]. Deshpande, J.R. Free radical scavenging activity of *Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl. [Text] / J.R. Deshpande, M.R. Mishra, V.S. Meghre, S.G. Wadodkar, and A.K. Dorle // 2007. Fruit Natural Prod. Rad. 6: P. 127–130.

[123]. Duke, J.A. Handbook of phytochemical and constituents of GRAS herbs and economic plants [Text] / J.A. Duke. // CRC Press, Boca Raton, Fla 1999.

[124]. Erasto, P. Antioxidant activity and HPTLC profile of *Lagenaria siceraria* fruits [Text] / P. Erasto, Z.H. Mbwambo // 2009. Tanzania J. Health Res. 11(2): P. 79–83.

[125]. Evans, W.C. Trease and Evan's pharmacognosy [Text] / W.C. Evans, W.B. Saunders // London 1996.

[126]. Fard MH., et al. "Cardioprotective activity of fruit of *Lagenaria siceraria* (Molina) Standley on Doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats" [Text] / M.H. Fard // International Journal of Pharmacology 4.6 (2008): P. 466-471.

[127]. Frederick, O.O. Toxicology [Text] / O.O. Frederick, A.U. Ighofimoni, O.O. Julie // 1998; 131: 93-8.

- [128]. Gangwal, A. Isolation and immunomodulatory activity of phytoconstituents of *Lagenaria siceraria* [Text] / A. Gangwal, S.K. Parmar, and N.R. Sheth // 2009. Pharm. Commun. 2: P. 46–50.
- [129]. Gangwal, A. Immunomodulatory effects of *Lagenaria siceraria* fruits in rats [Text] / A. Gangwal, S.K. Parmar, G.L. Gupta, A.C. Rana, and N.R. Sheth // 2008. Pharmacog. Mag. 4(16):S234–S238.
- [130]. Ghule, B.V. Exp Biol [Text] / Ghule B.V, Ghante MH, Saoji AN, Yeole PG. Indian J // 2006; 44: 905-9.
- [131]. Ghule B.V., et al. “Diuretic Activity of *Lagenaria siceraria* fruit extracts in rats” [Text] / B.V. Ghule // Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 69.6 (2007): 817-819.
- [132]. Ghule, B.V. Analgesic and antiinflammatory activity of *L. siceraria* (Mol.) Stand. fruit juice extract in rats and mice [Text] / B.V. Ghule, M.H. Ghante, A.B. Upganlawar, and P.G. Yeoli // Pharmacog. 2006 Mag. 2:232–238.
- [133]. Ghule, B.V., Hypolipidemic and antihyperlipidemic effects of *Lagenaria siceraria* (Mol.) fruit extract [Text] / Ghule, B.V., M.H. Ghante, A.N. Saoji, and P.G. Yeole. 2006a. // Ind. J. Exp. Biol. 44:905–909.
- [134]. Gopalan, C. B. Nutritive value of Indian foods [Text] / C. B. Gopalan, V.R. Sastri, S.C. Balsubramanian // National Institute of Nutrition, Hyderabad, India 1996.
- [135]. Görlitz, D. Investigation about long distance drifts of domesticated plants – drift – and germination experiments deliver new knowledge about the transoceanic spread of crop plants [Text] / D. Görlitz, C. Lorenz, A. Börner // Migration and diffusion. 2005. V.6. P.6–29.
- [136]. Habibur-Rahman, A.S. Bottle gourd (*Lagenaria siceraria*)—a vegetable for good health [Text] / A.S. Habibur-Rahman, 2003 // Nat. Prod. Radiance 2:249–256.

- [137]. Irfan Ahmad. Nutritional of *Lagenaria siceraria*. [Text] / Irfan Ahmad, Md. Irshad, M. Moshahid A. Rizvi. // International Journal of Vegetable Science, P. 158-170.
- [138]. Irshad, M. Phytochemical screening and high performance TLC analysis of some cucurbits [Text] / M. Irshad, I. Ahmad, H.C. Goel, and M.M.A. Rizvi. 2010 // Res. J. Phytochem. 4(4): P. 242–247.
- [139]. Irshad, M. Nutritional and medicinal potential of *Lagenaria siceraria* [Text] / M. Irshad, I. Ahmad and M.M.A. Rizvi 2011 // International Journal of Vegetable Science, 17: 157–170.
- [140]. Jiwjinda, S. Cancer Prevention Asian [Text] / S. Jiwjinda, V. Santisopasn, A. Murakam, OK. Kim, HK. Kim, H. Ohigashi. // 2002; 3: 215-23.
- [141]. Kaushik, G. Structural studies of a methyl galacturonosylmethoxyxylan isolated from the stem of *Lagenaria siceraria* (Lau). Carbohydr. [Text] / G. Kaushik, C. Krishnendu, K.R. Sadhan, M. Subhas, M. Debabrata, D. Debsankar, K.O. Arnab, and S.I. Syed // 2008. Res. 343:341–349.
- [142]. Kappus, H. Oxidative stress in chemical toxicity [Text] / H. Kappus // Arch. Toxicol. – 1987/ - Vol.60, № 1- 3. –P. 144 – 149.
- [143]. Kaushik G. Structural identification and cytotoxic activity of a polysaccharide from the fruits of *Lagenaria siceraria* (Lau). [Text] / G. Kaushik, C. Krishnendu, K.O. Arnab, S. Siddik, and S.I. Syed. 2009 // Carbohydr. Res. 344:693–698.
- [144]. Kirtikar K.R. Indian medicinal plants [Text] / K.R. Kirtikar B. D. Basu // Oriental Enterprises, 2nd ed., Dehradun 2001.
- [145]. Kirtikar, K.R. and B.D. Basu. Indian medicinal plants [Text] / K.R. Kirtikar, B.D. Basu // International Book Distributors, Dehradun, India 1998.
- [146]. Kus, I.N. Acta Histochem [Text] / I.N. Kus, H. Colakoglu, D. Pekmez, M. Seckin // Ogeturk, Sarsilmaz M. 2004; 106: 289-97.

- [147]. Lin C.C. J Ethnopharmacol [Text] / C.C. Lin, D.E. Shieh, M.N. Yen // 1997; 567: 193-200.
- [148]. Marco, D.B. Mechanisms of disease: antioxidants and atherosclerotic heart disease [Text] / D.B. Marco, V. Joseph, and K. John. // New Engl. J. Med. 337: 1997. P. 408–416.
- [149]. Modgil, M. Carbohydrate and mineral content of chryote (*Sechium edule*) and bottle gourd (*Lagenaria siceraria*). [Text] / M. Modgil, R. Modgl, and R. Kumar. 2004. // J. Human Ecol. 15:157–159.
- [150]. Mohale, DS., et al. “Antihyperlipidemic activity of isolated constituents from the fruits of *Lagenaria siceraria* in albino rats” [Text] / International Journal of Green Pharmacy 2.2 (2008): 104-107.
- [151]. Moritaetal, M. Drug – induced hepato – toxicity test using gamma glutainylcysteinesynthetase knockdown rat [Text] / M. Moritaetal, S.Akai H. Hobomi K. Tsuneyaim M. Nakajima T. Yokoi // Drug. 7 Toxicol. Lett, 2009. Vol. 189. №2. P. 159 – 165.
- [152]. Nadakarni, K.M. Indian Materia Medica. [Text] / K.M, Nadakarni A.K. Nadakarni // 1992; Vol. 1. Mumbai: Popular Prakashan.
- [153]. Nadkarni, K.M. Indian materica medica. [Текст] / K.M. Nadkarni, A.K. Nadkami. 1996. // Popular Prakashan, Delhi, India.
- [154]. Ojiako, O.A. and C.U. Igwe. 2007. Nutritional and anti-nutritional compositions of *Cleome rutidosperma*, *Lagenaria siceraria*, and *Cucurbita maxima* seeds from Nigeria [Text] / O.A. Ojiako C.U. Igwe. 2007 // J. Med. Food 10:735–738.
- [155]. Peraetal, N. Oxidative stress in hepatic fibrogenesis: implications from a nutional model of nonalcoholic steatoliepatitis. [Text] / N., Peraetal, G.C Farrel // Hepatology. 1999, vol 30 P.- 493 – 494.
- [156]. Plaa, G. Toxicology of Liver [Text] / G. Plaa, W. Hewitt, D. Zakin, T.D. // Bayer (eds). Raven Press, New York, 1982; 103-20.

- [157]. Poterton, D. Culpeper's Color Herbal. [Text] / D. Poterton, W. Copyright, Foulsham, Co. Ltd. // Publ. by Sterling Publishing Cp., Inc., Two part Avenue, New York, 10016, 1982; 152.
- [158]. Pungpapong, S. Natural history of hepatitis B virus infection: [Text] / S. Pungpapong W.R Kim, J.J. Poterucha // an update for clinicians. Mayo Clin Proc. 2007 Aug;82(8):967-75.
- [159]. Rafatullah, S, Mossa J.S, Ageel A.M, Al-yahya M.A, Tarriq M. Int J Pharmacol [Text] / S. Rafatullah J.S. Mossa A.M. Ageel M.A. Al-yahya M. Tarriq // Int J 1991; 29: 296-300.
- [160]. Rajesh, M.G. J Ethnopharmacol [Text] / M.G, Rajesh, M.S Latha // 2004; 91: 99-104.
- [161]. Rawat, A.K. Ethnopharmacol [Text] / A.K, Rawat S. Mehrotra, S.C. Tripathi, U. Shome // 1997; 56: 61-6.
- [162]. Recknogel R.O. Pharmacol [Text] / R.O. Recknogel E.A Glende, J.A Dholak, R.L Walter // Ther 1989; 43: 135.
- [163]. Rej, R. Am J Clin Pathol [Text] / R. Rej / 1978; 28: 56-63.
- [164]. Saha, P. "Antihyperglycemic activity of Lagenaria siceraria aerial parts on streptozocin induce diabetes in rats" [Text] / P. Saha // Diabetologia Croatica 40.2 (2011): 49-50.
- [165]. Saha, P. "Evaluation of anticancer activity of Lagenaria siceraria aerial parts" [Text] / P. Saha // International Journal of Cancer Research 7.3 (2011): 244-245.
- [166]. Sane, R.T, Kuber V.V, Mary, Menon S. Curr Sci 1995; 68: 1243-6.ISSN: 0975-8585 January – March 2011 RJPBCS Volume 2 Issue 1 Page No. 137
- [167]. Shah BN and Sheth AK. "Screening of Lagenaria siceraria fruits for analgesic activity" [Text] / B.N. Shah and A.K. Sheth //Romanian Journal of Biology - Plant Biology 55.1 (2010): 23-26.

- [168]. Shah, B.N. Phytopharmacological profile of *Lagenaria siceraria*: [Text] / B.N. Shah, A.K. Seth, and R.V. Desai. 2010a. // a review. Asian J. Plant Sci. 9(3):152–157.
- [169]. Shim J. Y. Protective action of the immunomodulator ginsan against carbon tetrachloride-induced liver injury via control of oxidative stress and the inflammatory response [Text] / J. Y. Shim M. H. Kim, H. D. Kim, J. Y. Ahn, Y.S. Yun J.Y. // Song Toxicology and Applied Pharmacology. 2010.- Vol. 242.- №3. -P. 318–325.
- [170]. Shirwaikar A. “Chemical investigation and antihepatotoxic activity of the fruits of *Lagenaria siceraria*” [Text] / A. Shirwaikar and K.K. Screenivasan Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 58 (1996): 197-202.
- [171]. Shirwaikar, A. Chemical investigation and antihepatotoxic activity of the fruits of *Lagenaria siceraria* [Text] / A. Shirwaikar,. and K.K. Sreenivasan. 1996. // Ind. J. Pharm. Sci. 58:197–202.
- [172]. Sonja, S. Analysis of cucurbitacins in medicinal plant by HPLCMS. [Текст] / S. Sonja, and S. Hermann. 2000. // Phytochem. Anal. 11:121–124.
- [173]. Teocharis S.E. Toxicology [Text] / S.E. Teocharis A.P. Margheli, C.A. Skaltas, A.S. Koutelinis // 2001; 161: 129-38.
- [174]. Teppner H. Notes on *Lagenaria* and *Cucurbita* (Cucurbitaceae) [Text] / Review and new contributions // Phytom. 2004. V.44. N2. P. 245–308.
- [175]. Uorakkotil I. A Review on Hepatoprotective and Immunomodulatory Herbal Plants [Text] / Uorakkotil I., Deepshikha P., Vidhu A., Punnooth P.N.// Pharmacognosy Review, Vol 10. Issue 19, Jan-Jun, 2016.
- [176]. Wang H.X, Ng TB. Life Sci 2000; 67: 2631-8.
- [177]. Wolfe, K.W.X. and R.H. Liu. 2003. Antioxidant activity of apple peels [Text] / J. Agric. Food Chem. 51:609–614.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

I. Научные статьи, опубликованные в рецензируемых журналах, рекомендованных утвержденных ВАК при Президенте РТ:

[1-А]. **Убайдулло, М.О.** Содержание биологически активных веществ в составе лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Stendl [Текст] / М.О. Убайдулло, М.М.Якубова, М.К. Курбонов // Известия Академии наук Республики Таджикистан. № 4 (199). 2017г. С.36-40. ISSN 0002-3477/

[2-А]. **Убайдулло, М.О.** К вопросу о новых перспективных фитогепатопротекторов [Текст] / Г.К. Мироджов, М. М. Якубова, М.О. Убайдулло, М.К. Курбонов, Р.А. Ашурова Проблемы гастроэнтерологии № 3 Душанбе - 2018 г. - С. 16-25.ISSN 0868-8109

[3-А]. **Убайдулло, М.О.** Определение острой токсичности настойки лагенарии обыкновенной (*Lagenaria Siceraria* (Mol.) Stendl.) [Текст] / М.О. Убайдулло, М.О. Муминов А. Муминов, М. Раджабалии // Доклады таджикской академии сельскохозяйственных наук № 3 (61) 2019 г. - С. 57-58. ISSN 2218-1814.

[4-А]. **Убайдулло, М.О.** Муайянкунии микдори чамъи флавоноидҳо дар дилаи (лаҳми) меваи *Lagenaria siceraria* Moll. [Матн] / М.О. Убайдулло, М.К. Курбонов // Наука и инновация, №4, 2021 г. - С. 162-167

[5-А]. **Убайдулло, М.О.** Противовирусное и гепатопротекторное действие настойки лагенария при экспериментальном вирусном гепатите «В» [Текст] / М.О.Убайдулло, Г.К.Мироджов, М.М. Якубова, М.К. Курбонов // Гузоришҳои АМИТ № 7-8. 2021 г. - С. 475-479.

[6-А]. **Убайдулло, М.О.** Изучение гепатопротекторного действия экстракта лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria* (Mol.) при экспериментальном гепатите, вызванном CCL₄ [Текст] / М.О. Убайдулло // Известия Национальной Академии наук Таджикистана. №2 (217). 2022 г. - С.59-67. ISSN 2791-0717.

[7-А]. **Убайдулло, М.О.** Исследование полифенольных соединений в составе лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria*) методом ИК – спектроскопии

[Текст] / Убайдулло М.О., Якубова М.М., Курбонов М.К. // Наука и Инновация. №1. 2024 г.- С.165-169. ISSN 2312-3648

II. Статьи и тезисы в других научных изданиях

[8-А]. **Убайдулло, М.О.** Изучение физико-химических свойств горлянки обыкновенной (*Lagenaria siceraria* L.) [Текст] / М.О.Убайдулло, // Матер. междун. науч. конф. «Нақши олимони ҷавон дар рушди илм, инноватсия ва технология» посвящ. 25 л. гос. независ. РТ. Душанбе, 2016. – С. 419-421.

[9-А]. **Убайдулло, М.О.** Хосиятҳои гепатопротектории пайвастагҳои ғаёли биологии ҷубқаду [Матн] / М.О. Убайдулло, Н.Х. Ганиев. // Материалы республиканской научной конференции “Состояние биологических ресурсов горных регионов в связи с изменениями климата” Хоруг – 2016. – С 176 – 177.

[10-А]. **Убайдулло, М.О.** Определение биологически активных соединений в растении лагенария обыкновенная [Текст] / М.О.Убайдулло, // Матер. Второй междун. науч. конф. «Нақши олимони ҷавон дар рушди илм, инноватсия ва технология» Душанбе – 2017 г. – С. 59-61.

[11-А]. **Убайдулло, М.О.** Истифодаи сабзиш идоракунандаҳо дар растаниҳои ҷубқаду [Матн] / М.О.Убайдулло, // Матер. междун. науч. конф ТНУ “Дастовардҳои биологияи муосир дар Тоҷикистон. Душанбе – 2017 г.- С.136-37.

[12-А]. **Убайдулло, М.О.** Определение острой токсичности настойки лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Stendl.) [Текст] / М.О.Убайдулло // Международная научная конференция «Перспективы лекарственного растениеводства». Посвященная 100 – летию со дня рождения профессора Алексея Ивановича Шретера. Москва, 2018 г. - С. 699-701.

[13-А]. **Убайдулло, М.О.** Экстраксияи ҷубқаду ва ҷудонамудани моддаҳои ғаёли биологӣ аз таркиби он [Матн] / С.Э. Асоев, Ҷ.И.

Чалилов, С.И. Рачабов, М.К. Курбонов // Материалы республиканской научно- практической конференции посвященной Международному десятилетию действия “ Вода для устойчивого развития, 2018- 2028 годы”, “80- ой годовщине со дня рождения Юсупова Тилло Юсуповича” на тему: “Синтез новых биологически активных производных глицерина на основе аминокислот, пептидов и фуллерена C₆₀”, Душанбе , 2018 г. - С. 136- 138.

[14-A]. **Убайдулло, М.О.** Лагенария обыкновенная (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Stendl.), обладающая противовирусным и гепатопротекторным действие [Текст] / М.О. Убайдулло // Материалы республиканской научной конференции “ Адаптации живых организмов к изменяющимся условиям окпужающей среды”, Душанбе , 2019 г. - С. 119-120.

[15-A]. **Убайдулло, М.О.** Влияние сухого экстракта лагенарии обыкновенной (*Lagenaria siceraria* (Mol. Standl). на активность ферментов АсАТ и АлАТ в сыворотке крови при токсическом гепатите [Текст] / М.О.Убайдулло, М.М. Якубова, М.К. Курбонов // Маводи конференсияи II -юми илмии ҷумҳуриявӣ “Мутобиқшавии организмҳои зинда ба шароити тағйирёбии муҳити зист”, Душанбе, 2021г. - С.71-73.

[16-A]. **Убайдулло, М.О.** Выход суммы экстрактивных веществ горлянки обыкновенной (*Lagenaria siceraria* (Mol. Standl) [Текст] / М.О.Убайдулло, М.М.Якубова, М.К. Курбонов // Маводи конференсияи II -юми илмии ҷумҳуриявӣ “Мутобиқшавии организмҳои зинда ба шароити тағйирёбии муҳити зист”. Душанбе, 2021 г. - С.74-76.

[17-A]. **Убайдулло, М.О.** Влияние экстракта (*Lagenaria siceraria* (Mol.) Standl.) при токсическом гепатите [Текст] / М.О.Убайдулло, Дж.Н. Джалилов, М.Дж. Кодиров Материалы IV Центрально-Азиатского конгресса клинических фармакологов «Современное состояние и перспективы развития клинической фармакологии. Узбекистан, 2022 г.- С. 108-109.

[18-A]. **Убайдулло, М.О.** Влияние экстракта лагенарии обыкновенной на уровень триглицерид и МДА в сыворотке крови при токсическом гепатите

[Текст] / М.О.Убайдулло, // Материалы V- Международной научно – практической конференции фармакологов «Актуальные вопросы фармакологии: от разработки лекарств до их рационального применения», Узбекистан, 2024 г. - С. 101.

[19-А]. **Убайдулло, М.О.** Изученное наличие тяжелых элементов в составе растения лагенарии обыкновенной (*lagenaria siceraria*) [Текст] / М.О.Убайдулло, // Маводи конференсияи илмӣ – амалии «Илм аз дидгоҳи олимони ҷавон» бахшида ба эълон гардидани «Соли маърифати ҳуқуқӣ» Душанбе, 2024 г. - С. 438-439.