

**ДОНИШГОҲИ ДАВЛАТИИ ОМУЌЗОРИИ ТОҶИКИСТОН
БА НОМИ САДРИДДИН АЙНӢ**

УДК: 581.137.3/4 (575.3)

ББК 41.2 (2Т)

X-98

ҲУСЕЙНОВ УМАРҶОН МИРХОҶАЕВИЧ

**КОРКАРДИ КОМПОЗИТСИЯ ДАР АСОСИ ДОРУВОРИИ
МАСУНФАЪОЛИ ТИМОГАР, РАСТАНИҲОИ
ШИФОБАХШИ БАРГИ ЗУФ (*Plantago major* L.) ВА
ПУДИНАИ БОҶӢ (*Mentha piperita* L.)**

АВТОРЕФЕРАТИ

диссертатсия барои дарёфти дараҷаи илмии
номзади илмҳои биологӣ аз рӯи ихтисоси
03.01.04 - биохимия

ДУШАНБЕ – 2021

Кори илмӣ дар кафедраи химияи органикӣ ва биологияи До-нишгоҳи давлатии омӯзгории Тоҷикистон ба номи Садриддин Айнӣ анҷом дода шудааст.

Рохбари илмӣ: **Бобизода Ғуломқодир Муккамал** док-тори илмҳои биологӣ ва фармасевтӣ, профессор, президенти Академияи таҳсилоти Тоҷикистон

Муқарризони расмӣ: **Юлдошев Ҳимоҳиддин** - доктори илмҳои биологӣ, профессори кафедраи биохимияи факултети биологияи ДМТ

Мирзороҳимов Қурбоналӣ Каримо-вич номзади илмҳои химия, дотсенти кафедраи химияи ДТТ

Муассисаи пешбар: Муассисаи давлатии Озмоишгоҳи мил-лии референсӣ

Ҳимояи диссертатсия «06» маи соли 2021 соати 14⁰⁰ дар Шӯрои диссертатсионии 6D.KOA-024 назди Донишгоҳи миллии Тоҷикистон факултети биология баргузор мегардад. Суроға: 734025, Чумхурии Тоҷикистон, ш.Душанбе, кӯчаи Буни-Ҳисорак, бинои 16. E-mail: homidov-h@mail.ru

Бо диссертатсия ва автореферати он дар китобхонаи марказии До-нишгоҳи миллии Тоҷикистон 734025, ш.Душанбе, хиёбони Рӯдакӣ, 17 ва сомонаи интернетии ДМТ www.tnu.tj шинос шудан мумкин аст.

Матни автореферат дар сайти расмии КОА-и Чумхурии Тоҷики-стон ҷойгир карда шудааст.

Автореферат «__» _____ соли 2021 фиристода шуд.

Котиби илмӣ
Шӯрои диссертатсионӣ,
номзади илмҳои биологӣ

Ҳамидов Х.Н.

МУҚАДДИМА

Мухимияти мавзӯ: Бо сабаби торафт баланд шудани фишори омилҳои экологӣ ва иҷтимоӣ пастшавии қобилияти муқовимати бадани одам ба қайд гирифта шудааст, ки он боиси кам шудани фаъолияти детоксикатсионӣ, масунӣ ва дигар функцияҳои мутобикшавӣ ва созгорӣ маҳсуб мегардад. Дар натиҷа мавқеи ҷорасе, ки ба афзуншавии муқовиматпазирии ғайрихусусии организм мусоидат менамоянд, баланд мегардад. Истифодаи дорувориҳои рӯҳафзо, муқаввӣ ва масунфаъол ва иловагӣ фаъоли биологӣ (ИФБ), ки хосияти мутобикқунӣ доранд ва муқовимати организмро нисбат ба шароити номусоиди муҳити атроф афзун менамоянд, роҳи муосири ҳалли ин муаммо мебошанд.

Аз ин лиҳоз ҳоло тайёр кардани дорувориҳои, ки ҳамчунин аз моддаҳои фаъоли биологӣ (МФБ) растаниҳои шифобахш, ки дорои қобилияти таъсири системавӣ ба равандҳои патологӣ, аз он ҷумла хангоми истифодаи дуру дарози беҳатар дар ҳама гурӯҳҳои синнусолиро дороянд масъалаи муҳим ва муҳим маҳсуб меёбад. Онҳо дорои хосияти хуби ба худ тобовар шудани организм мебошанд ва микдори таъсирҳои берун аз ҷашмдоштро беҳад кам ба миён меоваранд (Киселева Т.Л., 2010.; Ловкова М.Я., и др.2014.; Старенькая И.,2015.)

Экспертҳои салоҳиятдори Ташкилоти Умумиҷаҳонии Тандурустӣ (ТУТ) чунин меҳисобанд, ки барои таъбиқи беш аз сеяки қулли беморон дорувориҳои аз растаниҳои шифобахш тайёркардашударо истифода бурдан ба мақсад мувофиқ аст (Гарник Т.П., 2004). Зидати аз ин самти таҳқиқотҳо бояд ба ҷониби дар таркиби як доруворӣ ҳамроҳ нигоҳ доштани воҳидҳои таркибии дорои хосиятҳои зиддимикробӣ, зиддиинтиҳобӣ ва масунфаъолӣ ниғаронида шавад. Дар ин маврид барои ба қисми осебдида маҷмӯан таъсир расонидан, нуқсонҳои ба миён омадари ислоҳ намудан ва системаи масунитро устувор гардонидан шароити муҳим мегардад, яъне самарани муолиҷа меафзояд.

Бинобар маълумотҳои сарчашмаҳои илмӣ МФБ-и барги зуф ва пудинаи боғӣ барои беҳтар шудани мубодилаи моддаҳо ва устувор гардонидани имунитет мусоидат менамоянд. Маҷмӯи МФБ-и ин растаниҳо дорои хосиятҳои зиддимикробӣ, зиддиинтиҳобӣ, зиддибактериявӣ, зиддиварамӣ ва масунфаъолӣ мебошанд.

Бо вуҷуди дастовардҳо дар самти таъбиқи самараноки бисёре аз бемориҳо бо истифодаи воситаҳои таъбиқи таркиби барги зуф ва пудинаи боғӣ, ҳоло ҳам нисбат ба масъалаи дарёфт намудани пайвастаҳои нави пептидҳо дар ҳамбастагӣ бо моддаҳои фаъоли биологӣ мавриди истифода қарордоштаи ин растаниҳо ва дар ин замина қор қарда баромадани доруворӣ нав ниёз ҳаст.

Хангоми тайёр кардани доруҳо дар асоси растаниҳои шифобахш (РШ) ба масъалаи истифодаи эҳтиёткорона ва оқилонаи захираҳои табиӣ диққати маҳ-

сус зоҳир карда мешавад. Бахусус ҳангоми омӯзиши намудҳои таҷҷоии растаниҳои шифобахш, таҷрибаи бисёрасраи тибби халқӣ низ ба инобат гирифта мешавад.

Тоҷикистон дорои шароити беназири табию иқлимӣ мебошад. Равандҳои фаъоли шаклгирии олами растаниҳои ин қисмати Помиру-Олои Ғарбӣ барои дарёфти манбаҳои нави моддаҳои фаъоли биологӣ имконияти хубе фароҳам овардаанд (Носиров, Азонов, 1992).

Дараҷаи азхудшудаи масъалаи илмӣ ва заминаҳои назариявӣ методологии таҳқиқот. Ба синтез ва таҳқиқи ҳосилаҳои аминокислотагӣ-пептидӣ қорҳои олимони хоричӣ ва ҳам ватанӣ бахшида шудаанд. Дар қорҳои Фридман С.Х., Петровский Л.Б., Андреев И.М., Счустер Д.И., Юсупов Т.Ю., Холиқов Ш.Х., Мирзороҳимов Қ.К., Раҷабов С.И., Мустафоқулова Р.А. ва дигарон ҳосилаҳои гуногуни органикии аминокислотаҳо омӯхта шудааст. Таркиб, сохт ва ҳосиятҳои биологӣ ҳосилаҳои бадастовардашуда омӯхта шудааст. Ҳангоми таҳлили ҳамаҷонибаи манбаҳои илмии интиҳобшуда муайян карда шуд, ки ҳосилаҳои аминокислотаҳо дар замони муосир дар тибби амалӣ ба сифати маводи доруворӣ дорои ҳосияти зиддивирӯсӣ ва зиддимикробӣ васеъ истифода мешаванд. Ҳамчунин муайян карда шуд, ки қоркарди композитсия дар асоси доруворӣ масунфаъоли тимоғар, растаниҳои шифобахши барги зуф (*Plantago major* L.) ва пудинаи боғӣ (*Mentha piperita* L.) дар мувофиқа бо сарчашмаҳои илмӣ кам омӯхта шудааст.

ТАВСИФИ УМУМИИ ТАҲҚИҚОТ

Ҳадафи таҳқиқот. Қоркарди композитсия дар асоси доруворӣ масунфаъоли тимоғар, шираи растаниҳои шифобахши барги зуф ва пудинаи боғӣ маҳсуб мегардад.

Объекти таҳқиқот: Аминокислотаҳои қатори L, доруворӣ тимоғар, растаниҳои шифобахши барги зуф, пудинаи боғӣ ва ҳайвоноти озмоишгоҳӣ.

Мавзӯи таҳқиқот: Қоркарди композитсия дар асоси доруворӣ масунфаъоли тимоғар, растаниҳои шифобахши барги зуф (*Plantago major* L) ва пудинаи боғӣ (*Mentha piperita* L) мебошад.

Масъалаҳои таҳқиқот: Барои қомеъ шудан ба ҳадаф иҷрои чунин вазифаҳо пешбинӣ шуда буд:

1. Синтези дипептиди изолейтсил-триптофан бо усули азидӣ;
2. Қоркарди усули ҷудоқунии шираи маҷмӯи МФБ-и растаниҳои шифобахши барги зуф ва пудинаи боғӣ, ба вучуд овардани композитсияи он бо доруворӣ масунфаъоли тимоғар, ҳаммонанд қардани қисматҳои он, муайян намудани нишондиҳандаҳои сифатии композитсия;
3. Омӯхтани ҳосиятҳои захрнокии (токсикологӣ) шираи маҷмӯи МФБ-и барги зуф ва пудинаи боғӣ ва ҳамчунин композитсияи онҳо бо доруворӣ тимоғар;

4. Омӯхтани хосиятҳои биологӣ композитсия;

5. Арзёбии таъсири композитсияи дорувории тимогар бо барги зуф ва пудинаи боғӣ ба нишондиҳандаҳои биохимиявӣ ва гематологӣ хуни мушҳои мубталои бемории таҷрибавии диабети қанд;

6. Омӯхтани хосиятҳои масунфаъолии композитсияи ҳосилкардашуда.

Усулҳои таҳқиқот: Синтези дипептиди изолейсил-триптофан бо усули азидӣ иҷро гаштааст. Барои муайянсозии сифатӣ ва андозагириҳои микродорӣ нишондиҳандаҳои сифатии дипептид, композитсия ва таркиботи он аз усулҳои спектрофотометрӣ (УБ, ИС), хроматографияи тунуккабата, хроматографияи моеи кориаш баланд, масс-спектрометрӣ, титронии йодометрӣ ва формолӣ истифода карда шудааст. Барои муҳосиботи нишондодҳои захрнокӣ шадидӣ (острая токсичность) композитсияи усули пробит-тахлили Литчфилд ва Уилкоксон истифода шудааст, ки асоси онро бақайдгирӣи фавти ҳайвонот вобаста ба меъёри воридшавии ташкил медиҳад. Диабети қандӣ таҷрибавӣ СД1 дар мушҳо тавассути ба шиками онҳо ворид намудани моногидрати аллоксан ба миён омадааст ва таъсири композитсияи ҳангоми ба ин беморӣ гирифтӣ шудани мушҳо аз рӯйи тағйирёбии нишондиҳандаҳои биохимиявӣ ва гематологӣ хуни онҳо арзёбӣ шудааст.

Хосияти масунфаъолии композитсияи тавассути омӯзиши таъсири он ба микродорӣ антителаҳо дар хуни мушҳо, ки бо эритроситҳои гӯсфанд (ЭГ) иммунизатсия шудаанд, ҳамчунин ба нишондодҳои иммунологӣ ва гематологӣ хуни мушҳо ҳангоми ба ҳолатҳои бемории норасоии масунии моделӣ гирифтӣ шуданашон арзёбӣ гаштааст.

Андозагириҳои спектрометрӣ дар спектрометри СФ-46 гузаронида шудаанд. Таҳқиқоти хроматографӣ дар пластинкаҳои хроматографияи «SilufolUV-254» («Сhemapol», Чехия), колонкаи UltrasphereODS (4,4 x 50 мм). гузаронида шудаанд

Соҳаи таҳқиқот: Биохимияи аминокислотаҳо ва пептидҳо: таҳқиқи усули синтези ҳосилаҳои тимогар, ба даст овардани композитсияи смаранокӣ он бо МФБ-и растаниҳои шифобахши барги зуф (*Plantago major L.*) ва пудинаи боғӣ (*Mentha piperita L.*), омӯзиши хосиятҳои физикию химиявӣ ва биологӣ маводи бадастовардашуда.

Марҳилаҳои таҳқиқот: Дар марҳилаи аввал (солҳои 2017 – 2018) таҳлили адабиёт оид ба мавзӯи диссертатсия анҷом дода шуда дар ин сол мубрамияти мавзӯ, ҳадаф ва вазифаҳои таҳқиқот муайян шудааст.

Дар марҳилаи дуюм (солҳои 2018 – 2019) таҳқиқи ҳосилаҳои аминокислотагӣ, пептидӣ, композитсияи аминокислотаҳо, қор қарда баромадани усули синтези ҳосилаҳои тимогар ва композитсияи он бо МФБ-и растаниҳои шифобахши барги зуф (*Plantago major L.*) ва пудинаи боғӣ (*Mentha piperita L.*) ва омӯзиши хосиятҳои физикию химиявӣ ва биологӣ моддаҳои бадастовардашуда анҷом дода шуд.

Дар марҳилаи сеюм (солҳои 2019 – 2020) чамбаст ва таҳлили маълумотҳои бадастовардашуда ба анҷом расонида шуд, аз таҳқиқот ҳулоса бароварда шуд; оид ба таҳияи диссертатсия қор ба анҷом расонида шуд.

Пойгоҳи асосии иттилоотӣ ва озмоиши таҳқиқот: Диссертатсия дар кафедраи химияи органикӣ ва биологӣ факултети химияи Донишгоҳи давлатии омӯзгорӣи Тоҷикистон ба номи С. Айни ҷро шудааст.

Эътимоднокии натиҷаҳои диссертатсионӣ: Боэътимодии натиҷаҳои бадастовардашуда бо истифодаи усулҳои муосири синтези ҳосилаҳои аминокислотагӣ-пептидӣ ва усулҳои муосири таҳқиқот – ИС-, МА спектроскопия ва таҳлили хроматографияи ДС-колорометрӣ таъмин ва қоркарди омории маълумотҳои таҷрибаҳои озмоишгоҳӣ асоснок карда шудааст. Барои ба даст овардани маълумотҳои таҷрибавӣ аз барномаи «Statistica 6.0» и Excel истифода бурдем.

Навгониҳои илмӣ таҳқиқот: Бори нахуст шакли нави доруворӣ композиция дар асоси намунаи масунфаъоли тимогар, барги зуф ва пудинаи боғӣ ба даст оварда шудааст, ки бо дарназардошти натиҷаҳои нишондиҳандаҳои сифатии таҳқиқоти гузаронидашуда ва таҳқиқи токлиникии ин доруворӣ қор карда баромадани шартҳои техникӣ ва назорати сифати он ба мақсад мувофиқ аст.

Аз рӯйи натиҷаҳои таҳқиқот таркиби биохимиявии гурӯҳҳои асосии моддаҳои фаъоли биологӣ барги зуф, пудинаи боғӣ ва композицияи онҳо бо доруворӣ тимогар муайян карда шудааст. Дар композицияи нишондиҳандаҳои миқдории флавоноидҳо, аминокислотаҳо ва ҳосияти зиддиоксидантии он муқаррар гардидааст.

Тибқи таҳқиқоти қаблии фармакологӣ бори аввал ҳосияти захрнокӣ шираи маҷмӯи барги зуфу пудинаи боғӣ ва композицияи онҳо бо доруворӣ тимогар, ҳамчунин фаъолияти назарраси ин композиция дар беҳтаргардонии нишондиҳандаҳои биохимиявӣ ва гематологии хуни мушҳои мубталои касалии қанди озмоишӣ муайян карда шудаанд.

Бори нахуст собит шудааст, ки композицияи бадастовардашуда на танҳо қобилияти ислоҳи ноҷурихоро дар системаи масунӣ, балки дар системаи хунофарӣ низ дорад.

Аҳмияти назарӣ таҳқиқот: Дар диссертатсия ҷанбаҳои назариявии таҳқиқот, стратегия ва интиҳоби шароит барои истифодаи усули синтези ҳосилаҳои тимогар, қор карда баромадани композицияи доруҳо бо МФБ-и растаниҳои шифобахши барги зуф (*Plantago major* L) ва пудинаи боғӣ (*Mentha piperita* L) вобаста аз ҳарорат, шароти реаксия, таъсири ҳалқунандаҳо ба маҳсули реаксия, тозагӣ ва омӯзиши ҳосиятҳои физикию химиявӣ ва биологӣ моддаҳои бадастовардашуда нишон дода шудааст.

Аҳмияти амалии таҳқиқот: Методологияи таҳқиқотро коллективҳои илмӣ ҳангоми тайёр кардани дорувориҳои таркибашон аз моддаҳои фаъоли биологӣ пептидӣ ва растанигӣ истифода бурда метавонанд. Ҷамъбасти таҳқиқот нишон медиҳад, ки композицияи доруворӣ тимогар, барги зуф ва пудинаи боғӣ хусусияти таквият бахшидан ба қобилияти сироятнопазирӣ дорад ва онро барои тавоносозии системаи масунӣ истифода бурдан самарай хуб оварда метавонад. Композицияи бадастовардашуда метавонад ба ҳайси иловаи фаъоли биологӣ ҳангоми табобати бемориҳои мавриди истифода қарор гирад.

Нуктаҳои химояшавандаи диссертатсия:

- усули синтези дипептиди изолейсил-триптофан;
- асосноккунии моҳияти сохтори композитсия дар заминаи дорувории тимогар ва маҷмӯи шираи растаниҳои барги зуфу пудинаи боғӣ;
- нишондиҳандаҳои сифатии композитсия;
- хосиятҳои биологӣ композитсия.

Саҳми шахсии довталаб: аз мушаххас кардани вазифаҳои таҳқиқот, интиҳоби усули синтези пептидҳо, интиҳоби варианти беҳтарини қор қарда ба-ромадани композитсия дар асоси дорувории муайян ва растаниҳои шифобахш, бевосита анҷом додани таҷрибаҳо, ҷамъоварӣ ва қорқарди натиҷаҳои озмоишҳо, таҳияи хулосаҳои диссертатсия иборат аст. Омодасозии мақолаҳо, ки натиҷаҳои диссертатсияро дар бар мегиранд, бевосита аз тарафи муаллиф ва ё бо ҳаммуаллифон амалӣ гаштааст.

Таъйиди диссертатсия ва иттилоот оид ба истифодаи натиҷаҳои он:

Нуктаҳои асосии диссертатсия дар семинарҳои кафедраи химияи биологӣ ва органикии факултети химияи Донишгоҳи давлатии омӯзгории Тоҷикистон ба номи С. Айни, кафедраи фанҳои табиӣи Донишқадаи омӯзгории Тоҷикистон дар ноҳияи. Рашт муаррифӣ ва баррасӣ гаштаанд, дар маводи конференсияи ҷумҳуриявии илмӣ-амалии, факултети фармасевтии ДМТ, марти 2018, конференсияи ҷумҳуриявии солонаи 10-уми илмӣ-амалии «Дастовардҳои соҳаи тандурустии Тоҷикистон дар даврони истиқлолият», бахшида ба 27-умин солгарди Истиқлолияти Давлатии Ҷумҳурии Тоҷикистон ва соли рушди сайёҳӣ ва хунарҳои мардумӣ. Коллеҷи тиббии ҷумҳуриявӣ, 25-26 декабри 2018 инъикос ёфтаанд.

Интишори натиҷаҳои диссертатсия. Вобаста ба мавзӯи диссертатсия 8 қори илмӣ, аз он ҷумла 5 мақола дар нашрияҳои тақризии бонуфузи тавсияшудаи ҚОА-и назди Президенти Ҷумҳурии Тоҷикистон ба таъб расидаанд.

Сохтор ва ҳаҷми диссертатсия. Диссертатсия аз муқаддима, тавсифи умумии таҳқиқот, фаслҳои шарҳи адабиёт, маводу усулҳои таҳқиқот, 3 боби таҳқиқоти шахсӣ, хулосаҳо ва пешниҳодот, инчунин, номгӯи адабиёти истифодашуда таркиб ёфтааст. Натиҷаҳои таҳқиқот дар 9 ҷадвалу 19 расмҳо инъикос ёфтаанд. Ҳаҷми диссертатсия 121 саҳифаи матни компютериеро ташкил медиҳад. Номгӯи адабиёт 156 сарчашмаро дар бар мегирад, ки 134-тои он бо забони русӣ ва 22 номгӯӣ бо забони хоричианд.

ҚИСМИ АСОСИИ ТАҲҚИҚОТ

Муқаддима аз асосноккунии мубрамияти таҳқиқоти илмӣ иборат буда, ҳадаф ва навовари илмӣ диссертатсия, аҳамияти назариявӣ ва амалии он принципҳои методологии омӯзиш муайян гардида, дар бораи конференсияҳои илмӣ, ки дар онҳо натиҷаҳои асосии диссертатсия муҳокима ва тасдиқ гардидаанд, маълумот оварда шудааст.

Дар боби якуми диссертатсия масъалаҳо дар бораи тавсифи ҳолатҳои норасоии масунӣ, нақши моддаҳои фаъоли биологии (МФБ) дар ислоҳкунии вайроншавиҳои системаи масунӣ, усулҳои асосии синтези пептидҳо, усулҳои таҳлили физикӣ-химиявии МФБ-и растаниҳои шифобахш, композитсияҳои воқеан созмонёфтаи иборат аз МФБ масунфаъол, дорувориҳои масунфаъоли сарчашмаашон тимус мавриди баррасӣ қарор гирифтаанд. Объект ва усулҳои таҳқиқот асоснок карда шудаанд.

Дар боби дувум истифодаи мавод ва методҳои дарёфти дипептиди изолейсил-триптофан Н-ІLe-Трp-ОН бо усули азидӣ, композитсия дар асоси дорувории тимогар, растаниҳои шифобахши барги зуф ва пудинаи боғӣ, дар шакли муфассал усулҳои синтези пептидҳо, омӯзиши таркиботи сифатӣ ва миқдорӣ ва ҳосиятҳои биологии композитсия баён шудаанд.

Ҳангоми коркарди пептидҳои аминокислотаҳои қатори L ва ҳосилаҳои аминокислотаҳои «Reanal» (Маҷористон) истифода шудаанд. Андозагириҳои спектрометрӣ тавассути спектрометри СФ-46, хроматографӣ - пластинкаҳои хроматографии «SilufolUV-254» («Chemapol», Чехия) иҷро шудаанд. Ба сифати элюент системаҳои: хлороформ; метанол; кислотаи сирко (60:45:20) и Б) пиридин: кислотаи сирко: об: Н-бутанол (20:6:24:30) истифода карда шудаанд. Дипептиди Н-ІLe-Трp-ОН ҳамчунин тавассути хроматографияи моеъгии кориаш баланд (ХМКБ) дар сутунҷаи самти - фазагии 250 x 16 мм бо силикагели Силасорб С₁₈ дар градиенти воситаи мобайнии атсетонитрил- атсетатаммоний (рН 6,8) аз 10 то 50% ва суръати ҷараёни 14 мл/мин (дарозии мавҷ 220 нм) покиза карда шудааст. ХМКБ-и аналитикӣ дар сутунҷаи UltrasphereODS (4,4 x 50 мм) гузаронида шудааст. Ҳаммонандкунии дипептид, инчунин тавассути усули масс-спектрометрӣ ба анҷом расидааст.

Ба сифати мавод барои ба даст овардани композитсия барғҳо ва танаи растаниҳои барги зуф ва пудинаи боғии моҳи августи соли 2016 дар водии Рашти Ҷумҳурии Тоҷикистон ҷамъовардашуда ва инчунин дорувории масунфаъоли тимогар истифода шудаанд. Барои дарёфт намудани шираҳои маҷмӯии обӣ ва обино спиртии (70%) маводи фаъоли биологии барги зуф ва пудинаи боғӣ қисматҳои растаниҳои шифобахшро дар таносуби 1:1 ва композитсияро бошад бо роҳи илова намудан ба 0,3г шираи маҷмӯӣ 100 мкг дорувории тимогар гирифта шудаанд. Хушккунӣ бо тарзи вакумӣ гузаронида шудааст.

Ҳамаи таҷрибаҳо тариқи на кам аз 6 маротиба гузаронида шудаанд. Натиҷаҳои таҷрибаҳо тавассути методҳои омӯрӣ бо истифодаи барномаҳои компютерӣ «Statistica 6.0» и Excel коркард шудаанд.

Натиҷаҳои синтези дипептиди изолейсил-триптофан, асосноккунии сохти композитсия дар асоси дорувории тимогар, растаниҳои шифобахши барги зуф ва пудинаи боғӣ, ҳаммонандкунӣ, омӯзиши таркиботи сифатӣ ва миқдории композитсияи ҳосилшуда, ҳамчунин ҳосиятҳои биологии он дар боби се-вум оварда шудаанд.

Синтези дипептиди изолейсил-триптофан тавассути усули азидӣ иҷро гардидааст. Барои амалӣ гаштани чунин синтез пайваستاи гидразидии Н-изолейсин бо тарзи зерин ҳосил гардид:

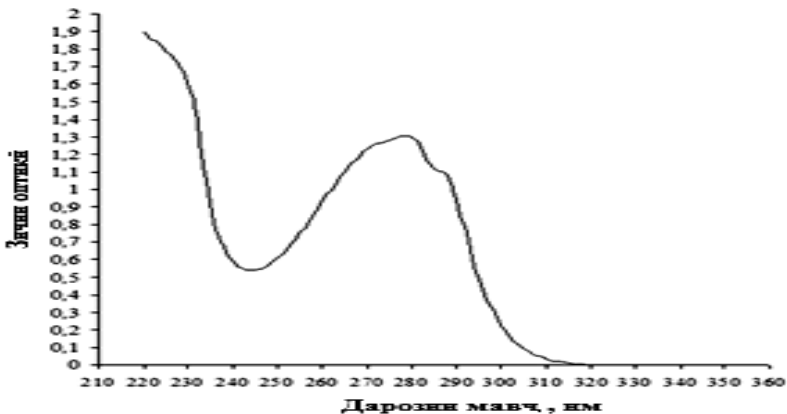
Пайваستاи азидии карбобензоксил изолейсин ҳангоми таъсири кислотаи нитрит ва бо ҳамроҳкунӣ ба муҳити реаксия хлоргидрат эфири метилии триптофан дарёфт шуда, бо анҷомёбии реаксия маҳлул аввал дар ротор – бугронак дар фишор ва ҳарорати паст бугронӣ гардид. Баъдан маҳлули бадастомада дар этиласетат омехта карда шуда, бо 0,5% NaHCO_3 ва 1% маҳлули кислотаи хлори бо маҳлули Na_2SO_4 сершуда шуста ва дар муддати 2 соат дар болои сулфати натрий бе об хушк гардонид шуд. Баъд маҳлули бадастомада софкорӣ гардида, дар бугронаки роторӣ дар шароити фишор ва ҳарорати паст бугронӣ карда шуд. Дар натиҷа маводи аморфӣ ба даст омад.

Покизакунии ниҳони дипептиди ҳимояшуда тавассути хроматографияи сугунчагӣ дар силикагели L-100/160 бо элюириони аввал бо хлороформ ва баъд бо маҳлули этиласетати бензол (3:2) анҷом дода шуд. Фраксияҳое, ки маводи асосиро дар худ доштанд, бугронӣ карда шуданд.

Дипептиди ҳимояшуда бо катализатори 10% Pd/C таҳти гидриронии каталитикӣ қарор гирифт. Дар марҳилаи ниҳой аз мутаваккифкунӣ (блокировка) баровардани дипептид бо эфири метилии изолейсил хлоргидрати изолейсил триптофан тавассути усули кафкунонӣ бо 0,1 н NaOH амалӣ гардид. Баъди ҷудо намудани гурӯҳҳои ҳимоякунандаи дипептид он бо усули тақрир-тақшонкунӣ аз спирти изопропанол тоза карда шуд. Тозагии маводи ҳосилшуда тавассути ХМКБ санчида шуд. Давомнокии баромади пайваستاҳои аморфӣ 15,31 дақиқаро ташкил дод. Спектрограммаи УБ-и дипептиди изолейсил-триптофан дар (расми 1) оварда шудааст. Сохтори дипептидро мушаххасоти масс-спектроскопӣ тасдиқ карданд.

Ҳамин тарик, ба чунин ҳулоса омадан мумкин аст, ки бо усули азидӣ метавон дипептиди изолейсил-триптофанро бо баромади хуб ва амалан бе ратсемизатсия ва инчунин дар шакли покиза ба даст овард, ки аз ҷиҳати фаъолияти биологӣ ва дигар тавсифоти физикию химиявӣ ба қаблан чунин дипептиди ҳосилшуда [Бобиев Ғ.М., 2000] мувофиқат дорад.

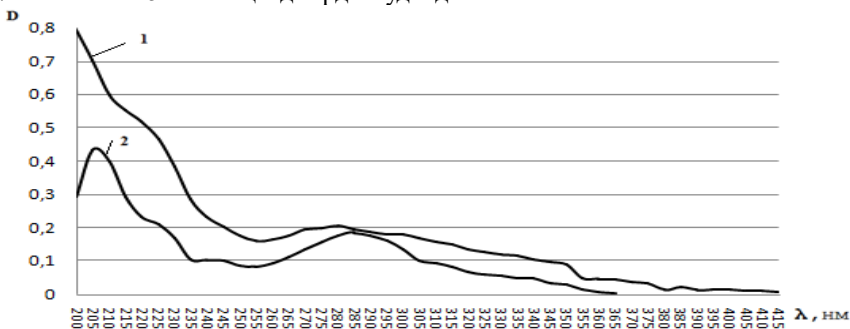
Дар давоми кор усули ба даст овардани композитсияи дорувории тимогар бо растаниҳои шифобахш оварда шудааст. Қисматҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ дар таносуби баробар гирифта шудаанд ва ин имконият медиҳад, ки таркиботи моддаҳои фаъоли биологӣ (МФБ) дар онҳо ниғаҳ дошта шавад, махсусан дар дараҷаи баланд ниғаҳ доштани флавоноидҳо ва маҷмӯи аминокислотаҳо. Ширази обӣ-спиртии растаниҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ бо спирти этилии 70%-а аз нуқтаи назари ҷудокунии таркиботи бисёрқисматӣ беҳтарин ҳисоб гардид, ки дар спектрограмаҳои-УБ равшан аён гардид. Меъёри дорувории тимогар дар композитсия бошад, он аз нуқтаи назари самаранокӣ таъбаҳои дар инъексияҳои обӣ ҳамчун оптималӣ доништа шудааст.



Расми 1. Спектрҳои УБ-и фурубарии дорувории тимогар

Дар марҳилаи дигари кор таҳлили сифатии маҷмӯи шираҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ, ҳамчунин композитсияи онҳо бо дорувории тимогар анҷом дода шуд.

Қаҷхатаи спектралӣи шираҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ дар координатаҳои $D(\lambda)$ (расми. 2) сохта шудааст. Дар спектрҳои УБ-и маҷмӯи оби шираи барги зуф ва пудинаи боғӣ ҳадди аксари (максимум) фурубарии рӯшноӣ $D=0,205$ ҳангоми $\lambda=281\pm 2$ нм ва китф ҳангоми дарозии мавҷи 348 нм; $D=0,185$ ҳангоми $\lambda=285\pm 2$ нм мушоҳида гардиданд (расми. 2). Ҳадди ақалли (минимум) фурубарии спектрҳои УБ дар маҷмӯи оби шираи барги зуф ва пудинаи боғӣ ҳангоми $\lambda=257$ нм; ва дар шираи оби спиртӣ – ҳангоми $\lambda=237\pm 2$ нм ва $\lambda=254\pm 2$ нм қайд карда шуданд.



Расми 2. Спектрҳои УБ-и маҷмӯи шираҳои моеии барги зуф ва пудинаи боғӣ: 1 – маҳлули обӣ, 2 маҳлули обию спиртӣ

Муайянсозии моддаҳои органикии ба даст оварда тибқи таҷриба аз рӯйи фурубарии ҳадди аксар амалӣ гардид. Маълум гардид, ки ҳадди аксари фурубарии маҳлули обӣ ҳангоми 281 нм (намуди гузариш $n \rightarrow \pi^*$), намуди гузариш ба марзи фурубарии 280-285 (± 2 нм)-и пайвастаҳои хушбӯй, ки сохтори бензолӣ ва ё гетеросиклӣ доранд, маҳлули обию-спиртӣ ҳангоми 206 \pm 2 нм (намуди гузариш $\pi \rightarrow \sigma^*$) ба марзи фурубарии спирт (алканҳо ва пайвастаҳои сершуда бо гетероатомҳо) ва ҳангоми 285 \pm 2 нм ба пайвастаҳои хушбӯй мувофиқат мекунад.

Дар хроматограммаҳои композитсия ҳангоми истифодаи системаи А) якто хол бо $R_f = 0,52$ аз хати ибтидо ва системаи Б) 3 хол бо $R_f = 0,73; 0,50; 0,06$ пайдо гардиданд. Натиҷаҳои бадастомада талаботро нисбат ба қиматҳои R_f : фарқи байни қиматҳои R_f набояд аз 0,05 хурд бошад ва зарур аст, ки қиматҳои R_f дар ҳудудҳои 0,05-0,85 ҷойгир шуда бошанд коней мегардонанд.

Натиҷаҳои таҳлили спектрии УБ-и композитсияи дорувории тимогар бо маҷмӯи шираҳои растаниҳо дар чадвали 1 оварда шудаанд. Ба сифати ҳалқунанда этанол (95%) истифода шудааст.

Чадвали 1. Нишондодҳои асосии спектралӣ маҳлули дорувории тимогар, маҷмӯи шираҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ (ҳадди аксар)

Дарозии мавҷ, нм	Зичии оптикӣ	Кoeffисиенти фурубарии молярӣ Ige	Концентрация маҳлул, %
207 \pm 2	0,405	4,201	0,01
218 \pm 2	0,270	4,007	0,01
225 \pm 2	0,310	4,057	0,01
249 \pm 2	0,050	3,274	0,01
278 \pm 2	0,735	4,214	0,001

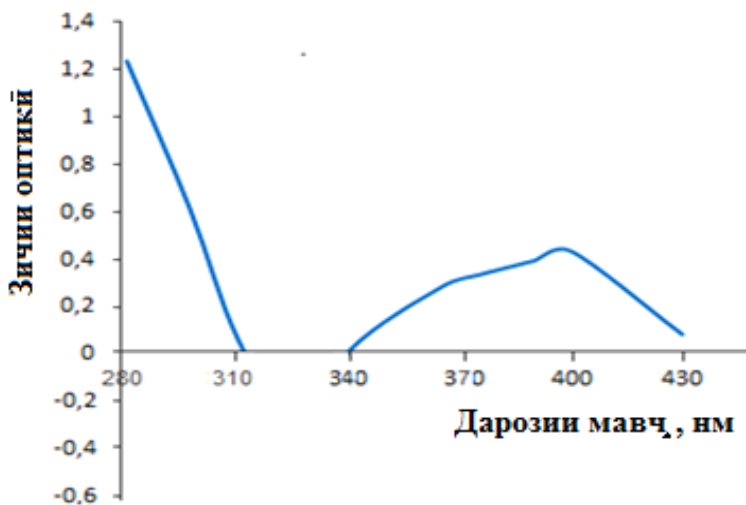
Нишондиҳандаҳои сифатии композитсия ҳангоми гузаронидани ИС-спектрометрия чунинанд: 3312 cm^{-1} (лапиши валентии ОН и NH гуруҳҳо); 1735 cm^{-1} (лапиши валентии C=O (эфирҳои мураккаб, алифатӣ), аминокислотаҳо); 1660 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} (лапиши валентии C=O (амид I; лапиши валентии N-C, флавоноҳо, аминокислотаҳо); 1594 cm^{-1} , 1519 cm^{-1} (лапиши раҷавина-лоқамандҳои карбон-карбонӣ хушбӯй, хинонҳо); 822 cm^{-1} (лапиши шакл-дигаркунии СН ҳалқаи хушбӯй (чуфт-ҷойдигаркуни), эфирҳои сиклӣ).

Дар идомаи таҳқиқот оид ба муайянсозии нишондодҳои сифатии композитсияи мазкур натиҷаҳои таҳлили миқдорӣ маҷмӯи флавоноидҳо ва омӯзиши хосиятҳои зиддиоксидантии он оварда шудаанд.

Бо мақсади ҳаммонандкунии (идентификация) ва муҳосиботи муқоисавӣ шираи спиртии композитсия бо хлориди алюминий истифода карда шуд. Қаблан спектри-УБ композитсия андозагирӣ карда шуд (расми. 3). Дар натиҷа маълум гардид, ки зичии ҳадди аксари оптикӣ спектри-УБ фурубарии ҳуди шираи спиртии дарёфтшудаи композитсияи мазкур бо зичии ҳадди аксари

спектри-УБ маҳлули тсиарозид, ки стандарт маҳсуб меёбад, ҳангоми 395 нм яқзайл мебошад.

Инчунин муайян гардид, ки речаи оптималӣ барои экстраксияи флавоноидҳо чунин аст: ҳамчун экстрагент спирти этил (70%) интиҳоб гардид, мутаносиби композитсия ва экстрагент 1:20, давомнокии экстраксия 30 дақ. дар болои гармкунак (обӣ). Ташкилшавии пайваستاи координатсионии флавоноидҳо бо хлориди алюминий дар муддати 30 дақ. идома меёбад, устувории он муддати 1 соат ниғаҳ дошта мешавад.



Расми 3. Спектри УБ-и пайваستاи флавоноидҳои композитсия бо хлориди алюминий.

Миқдори флавоноидҳо дар композитсия, ки ҳангоми экстраксияи он бо спирти 70 % муҳосиба шудааст, ба ҳисоби нисбатӣ бо тсиарозид 2,43%-ро ташкил намуд.

Дар идома бо усули йодометрӣ дар таркиби композитсия миқдори витамини С муайян карда шуд. Муҳосиботи миқдории мавҷудияти витамини С тавассути формулаи зерин иҷро гардид:

$$M = ((n \cdot \text{Э}) / 1000) \cdot V,$$

дар ин ҷо n консентрасияи молярии эквиваленти йод; Э - консентрасияи молярии эквиваленти витамини С, ки ба 88g баробар аст; V - ҳаҷми йоди дар титронӣ сарфшуда, мл.

6 озмоиши мувозӣ аз 6 намунаҳои композитсия гузаронида шуд ва тибқи муҳосиботи омӯри микдори кислотаи аскорбин дар таркиби композитсия ба ҳисоби миёна 0,038г-ро дар 100г ашё ташкил дод, ки он ба чунин микдор дар растании селдерей мувофиқат мекунад.

Дигар нишондиҳандаи муҳими ғаёли биологии растанҳои шифобахш дар онҳо вучуд доштани аминокислотаҳо-пайвастиҳои органикӣ, ки барои ташкилҳои сафедаҳо, гурӯҳҳои ғаёли ферментҳо, витаминҳо, фитонсидҳо ва ғайра заруранд, махсуб меёбанд.

Композитсияи мазкури мавриди омӯзиш қарор дошта дар худ дорувории тимогарро (изолейсил-триптофан, формулаи химиявӣ -H-Phe-Trp-OH) дорад, ки он аз аминокислотаҳои ивазнопазири: L-триптофан (кислотаи α -амин- β -индолилпропион, Trp) ва L- бақияи аминокислотаҳои изолейсин (кислотаи 2-амино-3-метилпентан, кислотаи 2-амин-3-метилвалериан Pe иборат аст. Тибқи сарчашмаҳои илмӣ дар таркиби шираҳои растанҳои шифобахши баҳои композитсия интихобшуда 14 аминокислотаҳо ҷой доранд.

Маҷмӯи аминокислотаҳо бо усули титронии формоли муайян карда шуд. Тибқи озмоишҳо бо 6 намунаи ашёи санҷишӣ ва коркарди омории натиҷаҳо микдори миёнаи маҷмӯи аминокислотаҳо дар композитсия 1,84 ғисадро нисбати 100г намуна ташкил дод.

Дар идома натиҷаҳои омӯзиши ҳосиятҳои биологии композитсияи бадастомада баён гаштаанд.

Қаблан [Бобиев Ғ.М., 1998] муқаррар карда шуда буд, ки дорувории тимогар дар вояҳои 10000 маротиба зиёдтар аз вояи табобатӣ барои одам амалан ҳосияти захрнокӣ надорад ва бо назардошти он ки ҳангоми омӯзиши ҳосияти захрнокӣи шадид (острая токсичность) шираҳои маҷмӯии обӣ ва обию спиртии барги зуф ва пудинаи боғӣ натиҷаҳои хуби қариб якхела ба даст оварда шуданд, инчунин онҳо ки тибқи усули спектрофотометрӣ ҳаммонандии таркиботи шираи обию спиртӣ нисбат ба ҳаммонандии шираи обии ин растанӣҳо аёнтар буд (қаҷҳаҳои фурубарӣ аз ҳадди аксар ва ҳадди ақал иборат буд), барои идомаи таҳқиқот композитсия иборат аз дорувории тимогар бо шираи маҷмӯии обию спиртии растанҳои мазкур интихоб гардид.

Ҳосияти захрнокӣи шадид дар 96 мушҳои безоти нару модаи массаашон 18-22г ҳангоми бо усули беруни (пероралӣ) ба онҳо ворид намудани маҳдӯлҳои обӣ ва обию спиртии шираҳои маҷмӯии растанӣҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ дар вояҳои: 150, 500, 800, 1500, 2500, 3000, 5000 мг/кг омӯхта шуд. Ҳар як воя дар гурӯҳҳои иборат аз 6 ҳайвонот (3 нарина ва 3 модина) таҳқиқ гардид, ҳамагӣ 16 гурӯҳ. Дар давоми 14 рӯз ҳолати ҳайвонот зери назорат қарор дошт. Барои муҳосиботи параметрҳои захрнокӣи шадид усули пробит-таҳлили Литчфилд ва Уилкоксон, ки аз бақайдгирии фавтазирии ҳайвонот вобаста аз вояи дорувории воридшаванда иборат аст, истифода шуд. Муқаррар гардид, ки шираҳои маҷмӯии растанӣҳои

барги зуф ва пудинаи боғӣ чиҳати захрнокии шадид ба синфи 6-уми хатарнокӣ (нисбатан безарар) ва дараҷаи захрнокиӣ ба $DL_{50} > 5000$ мг/кг мувофиқат мекунанд.

Омӯзиши хосияти захрнокии шадиди композитсия низ дар 36 муши безоти чинсашон ҳархела ва массаашон 18-22г бо воридкунии пероралии маҳлули композитсия дар вояҳои: 1000, 2000, 3000, 5000 мг/кг гузаронида шуд. Санҷиши ҳар як воя дар гурӯҳҳои иборат аз 6 ҳайвонот (3 нарина ва 3 модина) тартиб гирифт ва ҳамагӣ дар озмоиш 36 муш (12-то гурӯҳи назоратӣ) вобаста шуданд. Дар давоми ду ҳафта баъд аз ворид намудани композитсия аз болои мушҳо назорат карда, нисбат ба захрнокии он аз рӯйи фавти онҳо ва аломатҳои захрнок шудан: рафтори мушҳо, қабули ғизо, дигаргуншавии вазни онҳо, серҳаракатӣ, намуди пашм ва пардаҳои луобии онҳо арзёбӣ карда шуд. Дар тамоми давраи назорат ҳолати умумӣ ва рафтори ҳайвоноти таҳти санҷиш қарордошта аз дигар нишондиҳандаҳои гурӯҳҳои назоратӣ фарқе надоштанд.

Қараёни қабули ғизо ва об, тағйирёбии вазни мушҳое, ки композитсияро қабул карда буданд, нисбати мушҳои гурӯҳҳои назоратӣ фарқи назаррас надоштанд.

Дар давоми 14 шабонарӯз дар байни мушҳои озмоишӣ ҳолати фавт ба назар намерасид ва аз ин сабаб нишондоди LD_{50} –ро муқаррар кардан имконият нашуд. Он, ки дар меъёри 5000мг/кг ягон ҳодисаи фавти мушҳо ба назар нарасид, аз он гувоҳӣ медиҳад, ки тибқи ГОСТ 12.1.007-76 композитсияро ба синфи 6-уми хатарнокӣ (нисбатан безарар) [Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76,2] мувофиқ кардан мумкин аст.

Дар марҳилаи дигари қор омӯзиши таъсири композитсияи мазкур ба нишондодҳои биохимиявӣ ва гематологии хуни мушҳо ҳангоми ба касалии қанди озмоишӣ гирифтӣ шудани онҳо ба роҳ монда шуд. Таҷрибаҳо бо 15 мушҳои безоти наринаи массаашон 18-22г, ки шароити ниғаҳдорӣ онҳо дар виварияи Институти ветеринарии Академияи илмҳои кишоварзии Тоҷикистон муқаррарӣ буданд, гузаронида шуданд. Мушҳо ба касалии қанди СД1-и озмоишӣ тавассути ба даруни шиками онҳо ворид намудани моногидрати аллоксани (Хавинсон В.Х., 2005) маҳлули нормалии намакиаш 0,95 бо меъёри 200мг/кг гирифтӣ шуданд.

Баъд аз 10 рӯзи ворид намудани аллоксан таҷрибаҳоро доир ба омӯзиши таъсири композитсия ба нишондодҳои биохимиявӣ ва гематологии хуни мушҳо ҳангоми ҳаррӯза якборӣ ба шиками онҳо суспензияро (ҳокаи композитсия дар оби дистиллиронидашуда (муқаттар) бо таносуби 1:10) бо меъёри 0,2 мл/муш ворид намудан ба роҳ мондем.

Андозагирии нишондодҳои хуни мушҳо дар шабонарӯзҳои 7-ум ва 14-ум баъд аз оғози истифодабарии композитсия гузаронида шуд. Хунгириӣ барои

таҳлил ҳангоми сахарӣ ва шиками гуруснаи мушҳо аз раги думи онҳо дар миқдори 10 мл бе илова намудани консервант иҷро мегардид.

Андозагирии нишондодҳои биохимиявӣ ва гематологии ҳунобаи мушҳои озмоишӣ (ҷадвали. 2,3) ҳангоми касалии қанди озмоишии СД1 дар шабонарӯзҳои 7-ум ва 14-ум нишон дод, ки самти тағйирёбии онҳо ба тарафи муътадилшавӣ нигаронида шудааст.

Ҷадвали 3. Нишондодҳои гематологии ҳуни мушҳо ҳангоми ворид намудани композитсия

Нишондиҳандаҳо	То озмоиш шабонарӯзи 10-ум баъд аз воридшавии аллоксан	Шабонарӯзи 7-ум баъд аз озмоиш	Шабонарӯзи 14-ум баъд аз озмоиш	Меъёр (норма)
Эритроцитҳо, $\times 10^{12}/л$	5,2±0,71	5,7±0,86	6,4±0,42	7,0±0,5
Гемоглобин, г/л	120±2,76	118±2,42	115±2,42	111±4
Тромбоцитҳо, $\times 10^9/мкл$	394±2,67	391±2,27	389±2,17	371±17
Лейкоцитҳо, $\times 10^9/мкл$	7,1±0,64	5,9±0,56	3,7±0,21	3,1±0,3
Лимфоситҳо, %	83±0,18	75±0,16	68±0,12	63±2
СТЭ (СОЭ), мм/с	8,1±0,12	7,7±0,1	4,3±0,1	2,0±0,1

$p < 0,05$, СТЭ- дараҷаи тақшоншавии эритроцитҳо

Ҷадвали 2. Нишондодҳои биохимиявии ҳуни мушҳо ҳангоми ворид намудани композитсия

Нишондиҳандаҳо	То таҷриба (дар шабонарӯзи 10-уми баъди воридкунии аллоксан)	Дар шабонарӯзи 7-ум пас аз истифодаи КТЗП	Дар шабонарӯзи 14-ум пас аз истифодаи КТЗП	Меъёр
Билирубини умумӣ, мкмол/л	5,65±0,30	4,87±0,26	4,33±0,22	3,9±0,2
Мочевина, ммол/л	13,2±0,53	9,3±0,35	8,1±0,27	7,4±0,2
Креатинин, мг/дл.	0,54±0,57	0,46±0,34	0,31±0,27	0,28±0,02
АЛТв, /л	205±0,81	171±0,73	109±0,68	51±1
АСТв, /л	206±2,7	185±2,5	146±2,1	111±3
Миқдори умумии сафедаи, г/л	41±1,3	48±1,1	52±0,9	57±0,8

Албумин, г/л	13±0,65	16±0,4	18±0,5	19±0,6
Глюкоза, ммол/л	9,3±0,33	7,6±0,31	5,7±0,28	4,7±0,3
Калий, ммол/л	5,2±0,17	5,8±0,15	6,1±0,14	6,9±0,2
Натрий, ммол/л	118±6,12	122±5,07	125±4,16	133±7
Калсий, мол/л	5,25±0,06	4,18±0,06	2,34±0,06	1,85 ± 0,06
Холестерини умумӣ, ммол/л	4,6±0,67	3,7±0,53	3,1±0,46	2,7±0,1

p<0,05

Муқаррар гардид, ки дар хуни мушҳо ҳангоми СД1 нишондоди АЛТ -4-маротиба аз меъёр зиёд аст, холестерин – 1,7 маротиба ва сафедаи умумӣ – 1,4 маротиба аз меъёр паст аст.

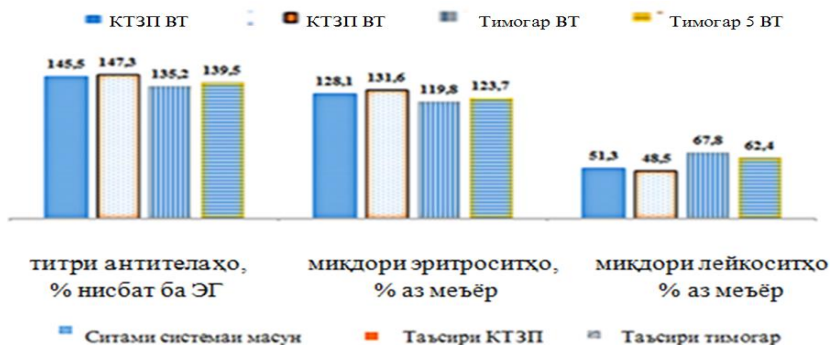
Нишондиҳандаҳои глюкоза, мочевина ва креатинин баъд аз 2 рӯзи истифодаи аллоксан қариб 2 маротиба аз меъёр зиёд шуданд. Баъд аз 14 шабонарӯз ин нишондодҳо мувофиқан 1,8, 1,1, 1,1 маротиба аз меъёр зиёд буданд. Нишондодҳои эритроцитҳо, гемоглобинҳо тромбоситҳо низ пеш аз санҷиши композитсия хеле зиёд буданд ва дар шабонарӯзи 14-ум рӯ ба пастшавӣ ниҳоданд.

Таҳлили натиҷаҳо нишон дод, ки истифодаи композитсия бар зидди бемории СД1-и озмоишӣ ба муътадилшавии нишондодҳои асосии биохимиявӣ ва гематологӣ оварда мерасонад. Аз ин рӯ, истифодаи композитсияи мазкур дар табобати касалии қанди СД1 дорoi самаранокӣ мебошад.

Омӯзиши фаъолияти масунафзoии композитсия дар асоси дорувории тимогар, барги зуф ва пудинаи боғӣ тибқи талабот нисбат ба воситаҳои масунафзoл гузаронида шуд. Дар идома таъсири композитсия ва дорувории тимогар (барои муқоиса) ба тағйирёбии миқдори антителаҳо дар хуни узвҳои канорӣ мушҳое, ки тавассути эритроцитҳои ғусфанд сироятнопазир (иммунизатсия) шуда буданд, арзёбӣ гардид. Ҳамчунин, фаъолияти масунафзoии воситаҳои озмоишӣ ҳангоми моделсозии ҳолатҳои норасоии иммунии дарачаи 2 дар мушҳо омӯхта шуд.

Мо таъсири ин воситаҳоро ба замшавии антителаҳо нисбат ба эритроцитҳои ғусфанд (ЭГ) дар хуни узви канорӣ мушҳо санҷидем. Муқаррар гардид, ки аллақай дар шабонарӯзи 5-ум баъди иммунизатсия таҳти таъсири ин воситаҳо миқдори антителаҳо нисбат ба ЭГ зиёд мешавад (расми. 4). Барои озмоиш 100 муши нари хати СВА (n=10) массаашон 18-22г интиҳоб шуданд. Хокаи хушкӣ композитсияи дар маҳлули физиологӣ обшуда ба тарзи ба даруни шикам воридкунӣ бо вояҳои табобатии 20 мкг ва 5- каратаи табобатӣ 100мкг як бор дар як рӯз то иммунизатсия тавассути эритроцитҳои ғусфанд (2×10^8 , вориди шикам) истифода шуданд. Ба мушҳои гурӯҳи назоратӣ бо вояи 100мкг маҳлули физиологӣ ворид карда шуд. Ба сифати антиген эритроцитҳои

гӯсфанд (ЭГ) истифода шуданд. ЭГ дар давоми 7-10 рӯз дар ҳарорати +4°C ниғаҳ дошта шуда буд.



Расми 4. Таъсири композитсия (КТЗП) ва дорувории тимогар (ДИТ) дар вояҳои табобатӣ (BT) ва 5-қаратаи вояи табобатӣ (5BT) ба рушди ташкилбнии антителаҳо нисбат ба ЭГ дар ҳуни узви канораи мушҳои хати СВА (n=10) дар шабонарӯзи 5-ум

Норасоии иммунии дараҷаи 2 дар мушҳои ҳангоми ба бемориҳои моделии шуӣ, гепатити шадиди захролуднок, камхунии гемолитикӣ ва ҷароҳат аз сӯхтан ба миён оварда шуд.

Интиҳоби меъёрҳои композитсия тибқи дастурҳо ва меъёрҳои дорувории тимогар дар андозаи 5—100 мкг ҳангоми воридкуни ба шикам як бор дар як шабонарӯз асос гирифтааст. Титри антителаҳо нисбат ба ЭГ дар ҳуни узви канораи мушҳои гурӯҳи назоратӣ миқдори $4,8 \pm 0,4$ -ро ташкил меод.

Натиҷаҳои омӯзиши таъсири композитсия ва дорувории тимогар ба нишондодҳои иммунологӣ ва гематологии ҳуни канораи мушҳои тавассути воридкунии онҳо ба шикам дар меъёрҳои 100 мкг/кг, масалан, ҳангоми бемори моделии шуӣ, ки дар расми 5 инъикос ёфтаанд. Аз расм бармеояд, ки титри антителаҳо нисбат ба ЭГ, миқдори эритроцитҳо ва лейкоцитҳо таҳти таъсири композитсия бештар рӯ ба афзоиш доранд. Чунин манзара ҳангоми омӯзиши композитсия ва тимогар дар дигар бемориҳои моделии мушҳои ба назар мерасид.



Расми 5. Таъсири композитсия (КТЗП) ва дорувории тимогар (ДИТ) ба нишондиҳандаҳои иммунологӣ ва гематологии хуни канораи мушҳо хангоми бемории шуони озмоишӣ

Натиҷаҳои таҷрибаҳоро аз рӯйи бемориҳои номбаршуда ҷамъбааст намуна, чунин ҳулоса қардан мумкин аст, ки композитсияи мазкур дар худ фаъолияти ислоҳкунии вайроншавиҳоро на танҳо дар системаи масунӣ, балки дар раванди ҳунофарӣ низ дорад ва бештар нисбат ба дорувории тимогар.

Дар ҳулосаҳои диссертатсия натиҷаҳои асосии илмӣ оварда шудаанд:

Дар ибтидои таҳқиқот аз тарафи мо масъалаи синтез ва ҳосил қардани дипептиди изолейсил-триптофан бо усули қаблан истифоданашуда усули азидӣ гузаронида шуда буд. Усули азидӣ дар байни дигар усулҳои муосир яке аз усулҳои маҳсуб меёбад, ки ҳангоми истифодабарии он ратсемизатсия ба вучуд намеояд. Натиҷаҳои озмоишҳои гузаронидашуда ва омӯзиши параметрҳои сифатӣ ва миқдорӣ дипептиди ҳосилшуда тавассути ХМКБ ва спектрометрия ҳаммонандии параметрҳои сифатӣ ва миқдорӣ онро бо чунин дипептид тасдиқ намуданд, ки қаблан бо истифодаи усули ангидридҳои омехташуда ва эфирҳои фаъолгардида [Бобиев Ғ.М., 2000] синтез шуда буд.

Композитсия дар асоси дорувории тимогар, растаниҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ бо роҳи санҷиш ва интиҳоби якчанд вариантҳои таносуби қисматҳои он сомон дода шуда ва беҳтарин вариант он буд, ки барои ҳосил қардани маҷмӯи шираҳои обӣ ва обию спиртии (70%) бо баландтарин мавҷудияти моддаҳои фаъоли асосии биологӣ ва созмони композитсия қисматҳои растаниҳо дар таносуби 1:1 гирифта шуд, ба 0,3г шираи маҷмӯӣ 100 мкг дорувории тимогар илова гардид. Ҳушккунии композитсия бо тарзи стандартӣ вакуумӣ ба ҷо оварда шуд.

Чунин вояии дорувории тимогар аз нуқтаи назари самаранокӣ таъбабии он дар инъексияҳои обӣ оптималӣ маҳсуб меёбад [Бобиев Ғ.М., 2000].

Таҳқиқоти шираҳои растаниҳо одатан дар ҳудудҳои спектрҳои УБ-и зоҳирӣ гузаронида мешаванд. Молекулаи табиаташ органикӣ аслан дар ҳудуди спектр-УБ (200-400нм) як ё якчанд порчаи (полоса) фурубарӣ дорад.

Порчаҳои фурӯбарӣ дар худуди УБ-и дур бо фурӯбарии квантҳои рӯшноии дорои энергияи калон алоқамандӣ доранд ва ба гузариши электронҳо ба дараҷаҳои баланд барангехтаи синглентии энергия мувофиқат мекунад. Ошкорсозии моддаҳои органикии ҳосилшуда тибқи амалия аз рӯи ҳадди аксар ба ҷо оварда шуд. Ба ҳайси элюентҳои системаҳои зерин истифода шуданд: А) хлороформ: метанол: кислотаи сирко (60:45:20) ва Б) пиридин: кислотаи сирко: об: Н-бутанол (20:6:24:30).

Ҳамин тавр фурӯбарии 281 нм маҳлули оби барги зуф ва пудинаи боғӣ (намуди гузариш $\rightarrow \pi^*$) ба порчаи фурӯбарии 280-285 (± 2 нм) пайвастаҳои хушбӯӣ, ки сохтори бензоӣ ё гетеросиклӣ доранд мувофиқат мекунад, маҳлули оби спиртӣ бошад, ҳангоми 206 ± 2 нм (намуди гузариш $\rightarrow \sigma^*$) – ба марзи фурӯбарии спирт (алканҳои пайвастаҳои сершуда бо гетероатомҳо) ва ҳангоми 285 ± 2 нм ба пайвастаҳои хушбӯӣ мувофиқат дорад.

Дар хроматограммаҳои композитсия ҳангоми истифодаи системаи А) як ҳоли ҳаракаткунанда бо $R_f = 0,52$ аз хати ибтидо ва ҳангоми истифодабарии системаи Б) 3 ҳоли бо $R_f = 0,73; 0,50; 0,06$ вучуд доштанд. Натиҷаҳои бадастомада талаботро нисбат ба қиматҳои R_f : фарқи байни қиматҳои R_f набояд аз 0,05 хурд бошад ва зарур аст, ки қиматҳои R_f дар ҳудудҳои 0,05-0,85 ҷойгир шуда бошанд, қонеъ мегардонанд.

Дар асоси омӯзиш дар ин марҳила мо ба чунин хулоса омадем: бо усули спектроскопӣ-УБ ҳаммонандкунии қисматҳое, ки дар таркиби шираҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ мавҷуданд ба ҷо оварда шуд; бо усули хроматографияи тунукқабата қиматҳои тавсифоти асосӣ $-R_f$ –и қисматҳои ҷудошавандаи шираҳои маҷмӯӣ муайян гардиданд.

Натиҷаҳои таҳлили сифатӣ бо усули спектрометрии-УБ нишон доданд, ки композитсияи таҳқиқшаванда 4 ҳадди аксар дорад ва тибқи сарчашмаҳои илмӣ дорои сохтори бисёрҷадروي хушбӯӣ мебошад. Ҳангоми консентрасияи 0,001 қуллаи спектри фурӯбарии композитсия ба тимогар мувофиқат мекунад.

Ҳангоми консентрасияи 0,01%-и маҳлул спектрҳои фурӯбарӣ бо $\lambda_{\text{макс}} = 207 \pm 2$ нм, $I_{\text{ге}} = 4,201$ ба спектри пайвастаҳои хушбӯӣ бо системаи баромад мувофиқат доранд, бо $\lambda_{\text{макс}} = 218 \pm 2$ нм, $I_{\text{ге}} = 4,007$ – ба $\pi \rightarrow \pi^*$ (ичозатгирфта) гузариш ва сохтор – ба бензоли моноҷойгиршуда, бо $\lambda_{\text{макс}} = 225 \pm 2$ нм, $I_{\text{ге}} = 4,057$; $\lambda_{\text{макс}} = 278 \pm 2$ нм, $I_{\text{ге}} = 4,214$ пайвастаҳои дорои алоқамандии вобасташударо тавсиф медиҳад ва $\lambda_{\text{макс}} = 225 \pm 2$ нм, $I_{\text{ге}} = 4,057$ – мувофиқ аст ба $\pi \rightarrow \pi^*$ (ҷонишини аз тарафи ҳалқаи хушбӯӣ паҳнгардида, К-порча) гузариш, сохтораш бошад – ба бензоли моноҷойгиршуда, ба ғайр аз ин ҳадди аксари фурӯбарӣ дар ин дарозии мавҷ ба баъзе флавоноидҳо монанди дорад, бо $\lambda_{\text{макс}} = 249 \pm 2$ нм, $I_{\text{ге}} = 3,274$ ба спектри пайвастаҳои гетеросиклии хушбӯӣ бо системаи баромад мутобиканд. Ҳангоми консентрасияи 0,001%-и маҳлул спектри фурӯбарӣ бо $\lambda_{\text{макс}} = 278 \pm 2$ нм, $I_{\text{ге}} = 4,214$ мувофиқ аст ба спектри стандартии пайвастаҳои хушбӯӣ бо системаи баромад,

ҳадди аксари фурубарӣ дар 280 нм -ба нишондиҳандаҳои пайвастаҳои фенолӣ (моддаҳои дубилӣ). Фурубарии ҳалқунанда этанол дар ҳудуди УБ 205 нм-ро ташкил медиҳад.

Нишондиҳандаҳои сифатии композитсия ҳангоми гузаронидани спектрометрия –ИС чунинад: 3312см⁻¹ (лапиши валентии ОН ва NH гурӯҳҳо); 1735см⁻¹(лапиши валентии С=О (эфирҳои мураккаб, алифатӣ), аминокислотаҳо); 1660см⁻¹, 1640см⁻¹ (лапиши валентии С=О (амид I; лапиши валентии N-C, флавоноҳо, аминокислотаҳо); 1594см⁻¹, 1519см⁻¹ (лапиши раҷҷавии алоқамандҳои карбон-карбонии хушбӯӣ, хинонҳо); 822см⁻¹ (лапиши шакл-дигаркунии СН ҳалқай хушбӯӣ (чуфт-ҷойдигаркунӣ), эфирҳои сиклӣ).

Тибқи маълумоти сарчашмаҳои илмӣ барги зуф ва пудинаи боғӣ дар таркиби худ аз гурӯҳи МФБ-и флавоноидҳо, моддаҳои дубилӣ, полисахаридҳо, кислотаҳои органикӣ ва аминокислотаҳо доранд

Флавоноидҳо соҳиби хосиятҳои хеле калони антиоксидантӣ мебошанд, аз он ҷумла, радикалҳои озоди оксигениро пайваст менамоянд ва липидҳоро дар мембранаҳои ҳуҷайраҳо ва сохторҳои байнихуҷайравии қабати шохӣ аз оксидшавӣ нигоҳ медоранд, яъне тавсифоти муҳими воситаҳои табобатӣ маҳсуб меёбанд. Мо ҳадаф гузоштем, ки хосиятҳои антиоксидантии композитсияи дорувории тимогар, барги зуф ва пудинаи боғиро омӯзем ва дар таркиби он қимати микдорӣ флавоноидҳоро муайян созем.

Дар ин кор яке аз усулҳои истифодашуда усули спектрометрӣ, ки универсалӣ ва мувофиқ ба моддаи фармокопей мебошад, ба кор бурда шудааст. Андозагириҳои спектрометрӣ дар спектрометрии СФ-46 ба анҷом расидаанд.

Бо мақсади ҳаммонандкунӣ (идентификатсия) ва муҳосиботи муқоисавӣ шираи спиртии композитсия бо хлориди алюминий бо назардошти он, ки ҳангоми ташкилбнии комплексҳои флавоноидҳо бо хлориди алюминий порчаи фурубарии флавоноидҳо аз 330-350 нм ба 390-410 нм мегузарад истифода карда шуд .

Қаблан спектри УБ-и композитсия андозагирӣ карда шуд (расми. 2). Дар натиҷа маълум гардид, ки зичии ҳадди аксари оптикӣ спектри УБ-и фурубарии худ шираи спиртии дарёфтшудаи композитсияи мазкур бо зичии максималии спектри УБ-и маҳлули тсиноарозид, ки стандарт маҳсуб меёбад, ҳангоми 395 нм яқзайл мебошад.

Инчунин муайян гардид, ки речаи оптималӣ барои экстраксияи флавоноидҳо чунин аст: ҳамчун экстрагент (ҳалқунанда) спирти этили 70% интиҳоб гардид, мутаносиби композитсия ва экстрагент 1:20, давомнокии экстраксия 30 дақ. дар болои гармкунаки обӣ. Ташкилшавии пайвастаи координатсионӣ флавоноидҳо бо хлориди алюминий дар муддати 30 дақ. идома меёбад, устувории он муддати 1 соат ниғаҳ дошта мешавад.

Тибқи муҳосибот ва коркарди омории он қимати маҷмӯи флавоноидҳо ба ҳисоби нисбати тсиноарозид 2,43%-ро ташкил намуд.

Дар идома бо усули йодометрӣ дар таркиби композитсия микдори витамини С муайян карда шуд. 6 озмоиши мувозӣ аз 6 намунаҳои композитсия гузаронида шуд ва тибқи муҳосиботи омӯрӣ микдори кислотаи аскорбин дар таркиби композитсия бо ҳисоби миёна 0,038г-ро дар 100 г намуна ташкил дод, ки он ба чунин микдор дар растаниҳои селдерей мувофиқат мекунад.

Ҳамин тавр, муҳимтаринтарин нишондодҳои фаъолияти биологӣ композитсия дар асоси доруворӣ тимогар, растаниҳои шифобахши барги зуф ва пудинаи боғӣ – қимати маҷмӯи флавоноидҳо ошкор карда шуд, ки онро пешгӯи дурнамои коркарди дорувориро дар чунин тартиб дар назар дорад.

Дигар нишондодҳои муҳими фаъолияти биологӣ растаниҳои шифобахш ин дар онҳо вучуд доштани аминокислотаҳо пайвастагиҳои органикӣ махсуб меёбад, ки барои ташкилҳои сафедаҳо, гурӯҳҳои фаъоли ферментҳо, витаминҳо, фитонсидҳо ва ғайра заруранд махсуб меёбад.

Композитсияи мазкури мавриди омӯзиш қарор дошта дар худ доруворӣ тимогарро (изолейсил-триптофан, формулаи химиявӣ -Н-Пе-Тр-ОН) дорад, ки он аз аминокислотаҳои ивазнопазири: L-триптофан (кислотаи α -амин- β -индолилпропион, Трп) ва L- бақияи аминокислотаҳои изолейсин (кислотаи 2-амино-3-метилпентан, кислотаи 2-амин-3-метилвалериан Пе иборат аст. Изолейсин дар таркиби сафедаҳо ва пептидҳои организмҳо вучуд дорад. Тибқи маълумоти сарчашмаҳои илмӣ дар таркиби шираҳои растаниҳои шифобахши барои композитсия интихобшуда 14 аминокислотаҳо ҷой доранд. Ҳамин тавр, аминокислотаҳои дар таркиби композитсия буда, ба гурӯҳи аминокислотаҳои озод тааллуқ доранд ва чи тавре, ки дар боло зикр шуда буд, барои фаъолияти организми одам хеле муҳим махсуб меёбанд.

Маҷмӯи аминокислотаҳо бо усули титронӣ формолӣ муайян карда шуд. Тибқи озмоишҳо бо 6 намунаи ашёи санҷишӣ ва коркарди омӯриҳои нағичаҳо микдори миёнаи маҷмӯи аминокислотаҳо дар композитсия 1,84%-ро нисбати 100г намуна ташкил дод.

Дигар қисмати қори ба анҷомрасида таҳқиқоти ҳосиятҳои биологӣ композитсия дар асоси доруворӣ тимогар, барги зуф ва пудинаи боғиро дар бар мегирад.

Омӯзиши захрнокии шадиди композитсияи сомоншуда дар ду марҳила аввал захрнокии шадиди шираҳои маҷмӯи барги зуф ва пудинаи боғӣ, баъд чунин ҳосияти худӣ композитсия ба ҷо оварда шуд.

Ҳосияти захрнокии шадид дар 96 мушҳои безоти наринаю модинаи массашон 18-22г ҳангоми бо усули берунӣ (пероралӣ) ба онҳо ворид намудани маҳлулҳои обӣ ва обию спиртӣ шираҳои маҷмӯи растаниҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ дар меъёрҳои: 150, 500, 800, 1500, 2500, 3000, 5000 мг/кг омӯхта шуд.

Муқаррар гардид, ки шираҳои маҷмӯи растаниҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ ҷиҳати захрнокии шадид ба синфи 6-уми хатарнокӣ (нисбатан беэар) ва дараҷаи захролудкунӣ ба $DL_{50} > 5000$ мг/кг мувофиқат мекунад.

Маълум буд, ки дорувории тимогар дар вояҳои 10000 маротиба зиёдтар аз вояи табобати барои одам амалан хосияти захрнокӣ надорад ва бо назардошти он, ки хангоми омӯзиши хосияти захрнокии шадид шираҳои маҷмӯии обӣ ва обию спиртии барги зуф ва пудинаи боғӣ натиҷаҳои хуби қариб якхела ба даст оварда шуданд, инчунин оне, ки тибқи усули спектрофотометрӣ ҳаммонандии таркиботи шираи обию спиртӣ нисбат ба ҳаммонандии шираи оби ин растаниҳо аёнтар буд (қаҷхатаи фурубарӣ аз максимумҳо ва минимумҳо иборат буд), барои идомаи таҳқиқот композитсия иборат аз дорувории тимогар бо шираи маҷмӯии обию спиртии растаниҳои мазкур интиҳоб гардид.

Он ки дар вояҳои 5000мг/кг ягон ҳодисаи фавти мушҳо ба назар нарасид, аз он дарак медиҳад, ки тибқи ГОСТ 12.1.007-76,2 композитсияро ба синфи 6-уми хатарнокӣ нисбатан безарар [Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76,2] мувофиқ қардан мумкин аст. Таҳқиқот аз он шаҳодат медиҳад, ки композитсия дар меъёрҳои озмоишгардида ба мушҳои озмоишӣ таъсири захрнокӣ надорад ва умедбахш будани таҳқиқотҳои идомавиро аз рӯи фаъолияти масунафзоии композитсия интиҳобгардида нишон медиҳад.

Дар мархилаи дигари кор омӯзиши таъсири композитсияи мазкур ба нишондодҳои биохимиявӣ ва гематологии хуни мушҳо хангоми ба касалии қанди озмоишӣ гирифтور шудани онҳо ба роҳ монда шуд.

Таҷрибаҳо бо 15 мушҳои безоти наринаи массаашон 18-22г, ки шароити ниғаждорӣ онҳо дар виварияи Институти ветеринарии Академияи илмҳои кишоварзии Тоҷикистон муқаррарӣ буданд, гузаронида шуданд. Мушҳо ба касалии қанди СД1-и озмоишӣ тавассути ба даруни шиками онҳо ворид намудани моногидрати аллоксан маҳлули нормалии намакиаш 0,95 бо меъёри 200мг/кг гирифтور шуданд.

Баъд аз 10 рӯзи ворид намудани аллоксан таҷрибаҳоро доир ба омӯзиши таъсири композитсия ба нишондиҳандаҳои биохимиявӣ ва гематологии хуни мушҳо хангоми ҳаррӯза якборӣ ба шиками онҳо суспензияро (ҳокаи композитсия дар оби муқаттар бо таносуби 1:10) бо меъёри 0,2 мл/муш ворид намудан ба роҳ мондем.

Андозагирии нишондодҳои хуни мушҳо дар шабонарӯзҳои 7-ум ва 14-ум баъд аз оғози истифодаи композитсия гузаронида шуд.

Тахлили хуни мушҳо нишон дод, ки истифодаи композитсия бар зидди бемории СД1-и озмоишӣ ба муътадилшавии нишондодҳои асосии биохимиявӣ ва гематологӣ оварда мерасонад.

Аз ин рӯ, истифодаи композитсияи мазкур дар табобати касалии қанди СД1 дорои самаранокӣ мебошад.

Дар идома таъсири композитсия ва дорувории тимогар (барои муқоиса) ба тағйирёбии миқдори антителаҳо дар хуни узвҳои канорӣ мушҳое, ки тавассути эритроситҳои гӯсфанд сироятнопазир (иммунизатсия) шуда буданд,

арзёбӣ гардид. Ҳамчунин, фаъолияти масунафзоии воситаҳои озмоишӣ ҳангоми моделсозии ҳолатҳои норасоии иммунии дараҷаи 2 дар мушҳо омӯхта шуд.

Мо таъсири ин воситаҳоро ба замшавии антителаҳо нисбат ба эритроцитҳои гӯсфанд (ЭГ) дар хуни узви канории мушҳо санҷидем. Муқаррар гардид, ки аллакай дар шабонарӯзи 5-ум баъди иммунизатсия таҳти таъсири ин воситаҳо миқдори антителаҳо нисбат ЭГ афзун меёбад. Чунин натиҷаҳо дар шабонарӯзи 7-ум баъди ба ҷо овардани ин санҷишҳо низ ба назар мерасиданд.

Барои озмоиш 100 муши наринаи хати СВА ($n=10$) массаашон 18-22г интихоб шуданд. Ҳокаи хушкӣ композитсияи дар маҳлули физиологӣ обшуда ба тарзи ба даруни шикам воридкунӣ бо вояҳои табобатии 20 мкг ва 5- каратаи табобатӣ 100мкг як бор дар як рӯз то иммунизатсия (фаёлгардонии масуният) тавассути эритроцитҳои гӯсфанд (2×10^8 , вориди шикам) истифода шуданд. Ба мушҳои гурӯҳи назоратӣ бо вояи 100мкг маҳлули физиологӣ ворид карда шуд. Ҳамчун антиген эритроцитҳои гӯсфанд (ЭГ) истифода шудаанд. ЭГ дар давоми 7-10 рӯз дар ҳарорати $+4^{\circ}\text{C}$ ниғаҳ дошта шуда буд. Пеш аз иммунизатсия ЭГ-ро дар муддати 10 дақиқа ва гардиши 1000гардиш/дақ. тоза намудем.

Норасоии иммунии дараҷаи 2 дар мушҳо ҳангоми ба бемориҳои моделии шуй, гепатити шадиди захролуднок, камхунии гемолитикӣ ва ҷароҳат аз сӯхтан ба миён оварда шуд.

Интиҳоби вояҳои композитсия тибқи дастурҳо ва вояҳои дорувории тимогар дар андозаи 5—100 мкг ҳангоми воридкунии ба шикам як бор дар як шабонарӯз асос гирифтааст.

Дар идома таъсири композитсия ва дорувории тимогар (барои муқоиса) ба нишондиҳандаҳои иммунологӣ ва гематологии хуни канораи мушҳо тавассути воридкунии ин воситаҳо дар вояҳои 100 мкг/кг баъд аз 5 рӯзи иммунизатсия бо ЭГ ҳангоми гирифтोर шудани онҳо ба бемориҳои модели зикргардида омӯхта шуд.

1) бемории нурӣ. Дар рӯзи 5-уми иммунизатсия, титри антителаҳо дар нисбати ЭГ – дар гурӯҳи санҷишӣ ба 4,8, миқдори эритроцитҳо – ба 7,0, лейкоцитҳо ба 3,1 баробар буд. Муайян гардид, ки ҳангоми нурзадагии титрҳои антитела дар хуни мушҳо дар нисбати ЭГ 2,26 баробар камтар шудааст, миқдори эритроцитҳо 2,84 баробар кам мегардад, шумораи лейкоцитҳо бошад, – 2,58 баробар коҳиш меёбад, пахш шудани раванди ҳунофари ба назар мерасад. Таҳти таъсири КТЗП миқдори титрҳои антителаҳо дар нисбати ЭГ – 1,71 маротиба баланд мешавад, тимогар – 1,63 маротиба, миқдори эритроцитҳо зери таъсири КТЗП 1,66 маротиба зиёд мешаванд, бо таъсири тимогар бошад, – 1,58. Маротиба КТЗП ба зиёдшавии миқдори лейкоцитҳо ба андозаи 1,69 маротиба ва тимогар бошад ба андозаи 1,64 маротиба мусоидат намуд.

2) гепатити шадидан захрнок (ГШЗ). Ҳангоми ин бемории модели титри антителаҳо дар хун дар нисбати ЭГ 2,12 маротиба кам шуданд, микдори эритроцитҳо - 1,85 маротиба, микдори лейкоцитҳо бошад, дар нисбати варианти назоратӣ 1,76 маротиба зиёд гардид. Таҳти таъсири КТЗП титрҳои антителаҳо дар нисбати ЭГ 1,55 маротиба баланд мешаванд, зеро таъсири тимогар бошад, - 1,47 маротиба. Аз ин ҷо метавон чунин натиҷагирӣ намуд, ки КТЗП дорои хусусияти беҳтар афзоиш додани титрҳои антителаҳо дар нисбати ЭГ ҳангоми ГШЗ мебошад. Муайян шуд, ки КТЗП мавҷудияти эритроцитҳо дар мушҳои гирифтори ГШЗ мутмаинан 1,58 маротиба, тимогар бошад 1,47 маротиба зиёд мекунад; КТЗП ба афзоиши лейкоцитҳо то - 1,62 маротиба ва тимогар то 1,57 маротиба мусоидат менамоянд.

3) анемияи гемолитикӣ. Маълум аст, ки натиҷаи ин беморӣ паст шудани саҳхи масунияти баданро дар пай дорад. Дар мушҳои гирифтори беморӣ, дараҷаи реаксияи масуни 3,54 маротиба пастар мегардад, яъне норасоии дуомилини масуният пайдо мешавад. Таҳти таъсири фенилгизини перхлорат титрҳои антителаҳо дар нисбати ЭГ 1,89 маротиба кам гардид, пас аз воридкунии композитсияи таҳқиқшавандаи мо титри антителаҳо - 1,75 маротиба ва истифодаи тимогар 1,7 маротиба зиёд мешавад. Муайян карда шуд, ки дар ҳолати ба ин монанди анемия, шумораи эритроцитҳо 2,16 маротиба кам мешавад. Зери таъсири КТЗП микдори эритроцитҳо дар муқоиса бо ҳолати қаблӣ - 1,85 маротиба ва тимогар 1,78 маротиба зиёд мегардад. Ҳамчунин ошкор шуд, ки ҳангоми анемияи таҷрибавии гемолитикӣ мавҷудияти лейкоцитҳо 1,53 маротиба кам мегардад. Композитсияи мавриди таҳқиқ теъдоди лейкоцитҳоро дар таркиби хуни мушҳо - 1,44 маротиба ва тимогарро 1,37 маротиба ба таври воқеӣ афзун мекунад.

4) бемории сӯхтагӣ. Дар ҳолати мачруҳ шудани мушҳо бар асари сухтан, дар онҳо норасоии дуомилини масуният сар мезанад. Дар ҳолати захми сӯхтагӣ доштан, зоҳиршавии антителаҳо 1,86 маротиба кам мегардад. КТЗП ба баландшавии титри антителаҳо дар нисбати ЭГ - дар ҳадди 1,48 маротиба ва тимогар то 1,42 маротиба мусоидат мекунад. Муқаррар гардид, ки пас аз мубталои гардидани чароҳати сӯхтагӣ шудан дар мушҳо, микдори эритроцитҳои таркиби хуни онҳо 1,74 маротиба кам шуда, шумораи лейкоцитҳо 1,38 маротиба афзоиш меёбад. Дар натиҷаи таъсири КТЗП, микдори эритроцитҳо - 1,48 маротиба ва ба таъсир тимогар 1,41 маротиба афзоиш меёбад; КТЗП ба камшавии микдори лейкоцитҳо то - 1,28 маротиба, тимогар бошад то ҳадди 1,22 маротиба мусоидат менамояд.

Натиҷаҳои таҷрибаҳо аз рӯи бемориҳои номбаршуда чамбаст намуда, чунин хулоса кардан мумкин аст, ки композитсияи мазкур дар худ фаъолияти ислоҳкунии вайроншавихоро на танҳо дар системаи масунӣ, балки дар раванди ҳунофарӣ низ дорад ва бештар нисбат ба дорувории тимогар.

ХУЛОСА НАТИЧАҲОИ АСОСИИ ИЛМИИ ДИССЕРТАТСИЯ

1. Истифодаи усули азидӣ дар раванди синтези пептидҳои пастмолекула аз ҳодисаи ратсемизатсия пешгирии менамояд, баромадҳои хуб медиҳад ва ояндадор аст **[4-М]**.

2. Сохтори коркардшудаи композитсияи дорувории тимогар бо шираҳои маҷмӯии моддаҳои фаъоли биологӣ барги зуф ва пудинаи боғӣ аз нуктаи назари ҳосиятҳои биологӣ мувофиқ аст **[6-М]**.

3. Таҳқиқоти фармакологӣ токсикологӣ композитсияи муқаррар намуд, ки дар вояҳои воридкунии пероралии он ғайризаҳрнок мебошад ва ба гуруҳи 6-уми заҳрнокӣ мувофиқ аст **[5-М]**.

4. Муқаррар карда шуд, ки композитсияи коркардшудаи раванди хунофариро муътадил месозад ва самаранокии барқароршавии организмро дар ҳайвонҳои озмоишгоҳӣ баланд мебардорад **[3-М; 6-М]**.

5. Муқаррар шуд, ки композитсия ба нишондодҳои гематологию биохимиявии хуни мушҳо ҳангоми ба касалии қанди озмоишӣ гирифтور шудани онҳо таъсири мусбат мерасонад **[1-М]**.

6. Таҳқиқоти ҳосиятҳои масунафзоии композитсияи муқаррар намуданд, ки композитсия дар асоси дорувории тимогар, барги зуф ва пудинаи боғӣ дорои фаъолияти аёни ислоҳкунии вайроншавӣ на танҳо дар системаи маснӯӣ, балки дар раванди хунофарӣ низ мебошад **[3-М]**.

Тавсияҳо оид ба истифодаи амалии натиҷаҳо

Усули азидии синтези дипептиди изолейсил-триптофан нишон дод, ки он дорои тарафҳои мусбат буда, барои синтези пептидҳои пастмолекула қобили қабул аст.

Ҳоло дар таъбаоти бисёр бемориҳои, ки сабабашон ба вуқӯъ пайвастанӣ вайроншавӣ дар фаъолияти системаи маснӯӣ мебошад, доруворӣҳои масунафзоӣ (тимогар, тимопентин, тимосин, тимофер ва диг.) дар асоси пептидҳои тимусӣ тайёр шудаанд, истифода мешаванд. Дар баробари ин дар таҷрибаи тиббӣ воситаҳои доругӣ, ки дар асоси моддаҳои фаъоли биологӣ растаниҳои маъруфи шифобахши дорои ҳосиятҳои масунафзо мавриди истифода қарор доранд.

Ба назардошти сарчашмаҳои илмӣ дар бораи ҳосиятҳои биологӣ фармакологӣ доруворӣҳои тимогар, истифодаи растаниҳои барги зуф ва пудинаи боғӣ дар таъбаоти бемориҳо ҳам алоҳида, ҳам дар таркиби комбинатсияҳои гуногун, натиҷаҳои таҳқиқоти мо ба чунин хулоса омадан мум-

кин аст, ки композитсияи пешниҳодшуда дар асоси дорувории тимогар, шираҳои маҷмӯи барги зуф ва пудинаи боғӣ барои табобати бемориҳои чигар, гипертония, касалии қанд, вайроншавии раванди хунгардии майнаи сар, гурдаҳо, аломатҳои хасташавии дурудароз, бемориҳои дилу рағҳо истифода бурдан мумкин аст. Он қори системаи асабро беҳтар мегардонад, ба хунгардӣ беҳбудӣ мебахшад, ҳолати ҳассоси рӯҳиро ба эътидол меорад, дорои таъсири зиддибактериявӣ мебошад, дараҷаи холестеринро паст мекунад, ҳангоми бемориҳои диққи нафас ва сулфа ҳолати организмро беҳтар мегардонад.

Дар асоси таҳқиқоти ба анҷомрасида композитсияи созмоншударо барои пешниҳод намудан ва гирифтани иҷозат барои озмоиши клиникӣ гузаронидан тавсия додан мумкин аст. Ҳангоми гузаронидани бомуваффақияти таҳқиқотҳои клиникӣ уро ояндаи хуби истифода дар таҷрибаи тиббӣ дар шақли иловаҳои фӯёли биологӣ интизор аст.

Нагиҷаҳои назариявӣ таҳқиқоти ба анҷом расидаро барои ба барномаҳои таълимии донишҷӯёни бахшҳои биохимия ва дорусозӣ макотиби олии ворид кардан тавсия дода мешавад.

ФЕҲРИСТИ ИНТИШОРОТИ ИЛМИИ ДОВТАЛАБИ ДАРЁФТИ ДАРАҶАИ ИЛМӢ

Мақолаҳои, ки дар маҷаллаҳои тақрибшавандаи ҚОА назди

Президенти

Ҷумҳурии Тоҷикистон ба таъб расидаанд:

[1-М]. Хусейнов У.М. Биологические и физико-химические свойства композиции на основе суммарных экстрактов подорожника большого (*Plantago major* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.) и препарата тимогара [Текст] / У.М. Хусейнов, Г.М. Бобизода // Известия АН Республики Таджикистан. Отд. биол. и мед. наук. – 2017. – №4 (199). – С. 41-47. ISSN 0002-3477

[2-М]. Хусейнов У.М. Изучение биохимического состава экстрактов из растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов // Известия АН Республики Таджикистан. Отд. биол. и мед. наук. – 2017. – №1 (196). – С. 46-50. ISSN 0002-3477

[3-М]. Хусейнов, У.М. Иммунотропная активность композиции на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Menthapiperita*L.) [Текст] / У.М. Хусейнов, Г.М. Бобизода // Вестник АМН Республики Таджикистан.– 2018. – Том VIII, №4. – С. 511-517. ISSN 2221-7355

[4-М]. Хусейнов У.М., Бобизода Ф.М. Синтези дипептид изолейсил-триптофан бо усули азидӣ / У.М. Хусейнов, Ф.М. Бобизода // Паёми До-нишгоҳи омӯзгорӣ. – 2019. – № 2-3 (3-4). – С. 145–149.

5-М]. Хусейнов У.М., Бобизода Ф.М. Омӯзиши фаъолияти захрноки, фармакологии таркиби шираҳои умумии барги зуф (*Plantago major* L.), пудинаи боғӣ (*Mentha piperita* L.) ва дипептид изолейсил триптофан / У.М. Хусейнов, Ф.М. Бобизода // Паёми Донишгоҳи омӯзгорӣ. – 2019. – № 2-3 (3-4). – С. 149–152.

Фишурдаи гузоришҳо дар дар маводҳои конференсияҳои илмӣ:

[6-М]. Хусейнов, У.М. Фармакологическая активность композиции на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов, Ф.М. Бобизода // Здравоохранение Таджикистана. Материалы 10-ой годичной республиканской научно-практической конференции на тему «Достижения медицинской отрасли Таджикистана за период независимости», посвященной 27-летию государственной независимости республики Таджикистан и году развития туризма и народных ремесел. Приложение №1 – 2018. – №4. – С. 86-88. ISSN 0514-2415

[7-М]. Хусейнов У.М. Характеристика органических компонентов суммарных экстрактов из растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов // Здравоохранение Таджикистана. Материалы 10-ой годичной республиканской научно-практической конференции на тему «Достижения медицинской отрасли Таджикистана за период независимости», посвященной 27-летию государственной независимости республики Таджикистан и году развития туризма и народных ремесел. Приложение №1 – 2018. – №4. – С. 84-85. ISSN 0514-2415

[8-М]. Хусейнов, У.М. Исследование состава биологически активных веществ в экстрактах растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов, С.Г. Ашуров, Ф.М. Бобизода // Наука и инновация.– 2018. – №1. – С.107-109. ISSN 2312-3648

НОМҶЌИ ИХТИСОРАҲО ВА АЛОМАТҲОИ ШАРТӢ

- МФБ** – моддаҳои фаъоли биологӣ
- ИФБ** – иловаҳои фаъоли биологӣ
- ХК** – хроматографияи когазӣ
- ПБ** – пептидҳои биофаъл
- ДНШЭ** – диапозони намудори шуои электромагнитӣ
- ХМКБ** – хроматографияи моеъгии короияш баланд

д/б	доҳилибаданӣ
НСД	намунаи стандарти давлатӣ
ФД	фармакопедия давлатӣ
ХГ	хроматографияи газӣ
ХМГ	хроматографияҳои моеъи газӣ
ДНИ	детектори нурии ионӣ
ОМ	оби муқаттар
КДН	кислотаи дезоксирибонукленӣ
ХНМ	ҳолати норасоии масуният
ВДМ	воқуниши дастгоҳи масуният
РМ	реаксияи масуниятӣ
КТЗП	композитсия дар асоси дорувории тимогар, растаниҳои шифобахши барги зуф ва пудинаи боғӣ
ВТ	воситаи табобатӣ
РШ	растани шифобахш
ДГ	детекторҳои гармигузаронӣ
ГШТ	гепатити захроқи шадид
ПЗР	пептидҳои зиддимикробии рустанигӣ
ДҚ	диабети қанд
НС	намунаи стандартӣ
ШОЗП	шираи маҷмӯи оби барги зуф ва пудинаи боғӣ
ШСЗП	шираи спиртӣи барги зуф ва пудинаи боғӣ
ВТ	вояи терапевтӣ
ДИТ	детектори термоионӣ
ХТҚ	хроматографияи тунуққабата
УБ	ултрабунафш
ФЭК	фотоэлектроқолориметр
АМФД	аденозинмонофосфати даврӣ
ГМФД	гуанозинмонофосфати даврӣ
ЭБ	эритротситҳои гӯсфанд
ДЭГ	детектори гирандаи электронӣ

**ТАДЖИКСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ. САДРИДДИН АЙНИ**

УДК:581.137.3/4 (575.3)

ББК 41.2(2Т)

X-98

ХУСЕЙНОВ УМАРДЖОН МИРХОДЖАЕВИЧ

**РАЗРАБОТКА КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ
ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА ТИМОГАР,
ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ ПОДОРОЖНИКА
БОЛЬШОГО (*Plantago major* L.) и МЯТЫ ПЕРЕЧНОЙ
(*Mentha piperita* L.)**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

по специальности

03.01.04 - биохимия

ДУШАНБЕ – 2021

Научная работа выполнена на кафедре органической и биологической химии Таджикский государственный педагогический университет имени Садриддин Айни

Научный руководитель: **Бобизода Гуломкодир Муккамал** доктор биологических и фармацевтических наук, профессор, президент Академии образования Таджикистана

Официальные оппоненты: **Юлдашев Химохиддин** доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии биологического факультета ТНУ

Мирзорохимов Курбонали Каримович кандидат химических наук, доцент кафедры химии ДТТ

Ведущая организация: Государственное учреждение Национальная референс лаборатория

Защита диссертации состоится «06» мая 2021 г. в 14⁰⁰ на заседании Диссертационного совета 6D.KOA-024 при Таджикском национальном университете, по адресу: 734025, г Душанбе, ул Бундхисорак, корпус-16 E-mail homidov-h@mail.ru.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в Центральной библиотеке Таджикского национального университета по адресу: 734025, г Душанбе пр. Рудаки 17 и на официальном сайте ТНУ www.tnu.tj.

Автореферат разослан «__» _____ 2021 г.

**Ученый секретарь
Диссертационного совета,
кандидат биологических наук**

Хамидов Х.Н.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы: По причине все повышающегося давления экологических и социальных факторов замечено уменьшение сопротивляемости организма человека, что является следствием уменьшения детоксикационных, иммунных и других его адаптационных и приспособительных функций. Вследствие этого возрастает роль мер, содействующих возрастанию неспецифической резистентности организма. Использование тонизирующих, общеукрепляющих и иммуностимулирующих лекарственных средств и биологически активных добавок (БАД), владеющих адаптогенным свойством и увеличивающих сопротивляемость организма неблагоприятным условиям окружающей среды, значит является действенным способом решения этой проблемы.

Поэтому ныне актуальной задачей стало создание лекарственных средств, состоящих, в том числе из биологически активных веществ (БАВ) лекарственных растений, которые имеют способности системно воздействовать на патологические процессы, в частности, при безопасном длительном применении во всех возрастных группах. Они владеют хорошей переносимостью, намного реже вызывают побочные эффекты и, как правило, не кумулятивны (Киселева Т.Л., 2010г.; Ловкова М.Я., и др. 2014г.; Старенькая И., 2015г.)

Компетентные эксперты Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) полагают, что в лечении более трети всех больных желателен применять препараты на основе лекарственных растений (Гарник Т.П., 2004г.). Более того, направленность изысканий должна быть в сторону совмещения в одном препарате компонентов с антимикробными, противовоспалительными и иммуностимулирующими свойствами, при этом появляются условия для комплексного влияния на пораженный участок, скорректировать нарушенные состояния и усилить иммунную систему.

Согласно литературным данным БАВ подорожника большого и мяты перечной стимулируют обмен веществ и повышают иммунитет. Сумме их БАВ свойственны противомикробные, противоопухолевые, бактерицидные, противовоспалительные и иммуностимулирующие эффекты.

Наряду с имеющимися успехами в области эффективного лечения многих заболеваний с использованием лечебных средств, содержащих подорожника большого и мяту перечную, все еще остается востребованной и важной задача нахождения новых соединений пептидов в сочетании с действующими активными компонентами этих растений и разработка на этой основе новых биологически активных добавок.

При создании ЛС на основе лекарственных растений (ЛР) большое внимание уделяется бережному и рациональному использованию природных ресурсов, в особенности изучению местных видов лекарственных растений, учитывается опыт народной медицины.

Таджикистан обладает уникальными природно-климатическими условиями. Активные формообразовательные процессы растительного мира этой части Западного Памиро-Алая дают возможность находить новые источники биологически активных веществ (Насыров, Азонов, 1992).

Степень изученности научной проблемы, теоретическая и методологическая основы исследований. Синтезу и исследованию аминокислотных и пептидных производных посвящены работы зарубежных и отечественных учёных. В работах Фридмана С.Х., Петровского Л.Б., Андреева И.М., Счустера Д.И., Юсупова Т.Ю., Холикова Ш.Х., Мирзорахимова Қ.Қ, Раджабова С.И., Мустафокулова Р.А. и др. изучены различные производные аминокислот. Исследованы состав, структура и биологические свойства полученных производных. При анализе литературных источников было выявлено, что производные аминокислот в современном мире широко применяют в практической медицине в качестве противовирусных и противомикробных препаратов. Также было выявлено, что разработка композиций на основе иммуномоделирующих препаратов тимогара, и БАВ состава лекарственных растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperite* L.) остается мало изученным вопросом.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Цель исследования: является разработка композиции на основе препарата тимогар, лекарственных трав подорожника большого и мяты перечной.

Объект исследования: Аминокислоты L-ряда, препарат тимогар, лекарственные травы подорожник большой, мята перечная, лабораторные животные.

Предмет исследования: Разработка композиции на основе иммуномодулирующего препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого (*Plantago major* l.) и мяты перечной (*Mentha piperita* l.)

Задачи исследования: Для реализации выбранной цели предстояло решить такие задачи:

- 1 Провести синтез дипептида изолейцил-триптофан азидным методом;
- 2 Разработать методику выделения суммарного экстракта БАВ лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной, образования композиции на этой основе и иммуностимулирующего препарата тимогар, провести идентификацию их компонентов, определить показатели качества композиции.
- 3 Изучить токсикологические свойства суммарного экстракта БАВ мяты перечной и подорожника большого, а также образованной композиции с препаратом тимогар;
- 4 Изучить биологические свойства композиции;
- 5 Оценить влияние композиции суммарного экстракта БАВ мяты перечной и подорожника большого с препаратом тимогар на биохимические и ге-

матологические показатели крови мышей при экспериментальном сахарном диабете;

6 Изучить иммуотропные свойства полученной композиции.

Методы исследования: При синтезе дипептида изолейцил-триптофан использован азидный метод синтеза пептидов. Для качественных определений и количественных измерений показателей качества дипептида, композиции применены спектрофотометрические методы (УФ, ИК), методы тонко-слойной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии, методы йодометрического и формольного титрования. Иммуотропная активность композиции была оценена изучением ее влияния на число антител в периферической крови мышей, иммунизированных эритроцитами барана (ЭБ), а также ее влиянием на иммунологические и гематологические показатели периферической крови мышей при модельных иммунодефицитных состояниях.

Спектрометрические измерения проводились на спектрометре СФ-46. Хроматографические исследования на хроматографических пластинках «SilufolUV-254» («Chemapol», Чехия), колонке Ultrasphere ODS (4,4 x 50 мм).

Отрасль исследования: Биохимия аминокислот и пептидов: исследование методов синтеза производных тимогара, разработка его эффективной композиции с БАВ состава лекарственных растений подорожника (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperite* L.) и изучение физико-химических и биологических свойств полученных препаратов.

Этапы исследования: В первом этапе (2017-2018 годы) проведен анализ литературы по теме диссертации, на этой основе определены актуальность, цель и задачи исследования.

Во втором этапе (2018-2019 годы) проведены исследования производных аминокислот и пептидов, композиция аминокислот, разработан метод синтеза производных тимогара и его композиции с БАВ состава лекарственных растений подорожника (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperite* L.) и изучение физико-химических и биологических свойств полученных препаратов.

В третьем этапе (2019-2020) завершено анализ полученных данных; результаты были обобщены и определены основные выводы; оформление диссертации было окончательно завершено.

Основная информационная и экспериментальная база: Диссертация выполнена на кафедре органической и биологической химии государственного образовательного учреждения «Гаджикский государственный педагогический университет» им. С. Айни

Достоверность диссертационных результатов: Достоверность полученных результатов подтверждается экспериментальными исследованиями с использованием современных методов синтеза производных аминокислот и пептидов и современные методы исследования ИК, МА спектроскопия и ана-

лиз хроматографии ДС-колориметрии, а также статистической обработкой полученных данных. Для обработки экспериментальных данных применяли программу «Statistica 6.0» и Excel.

Научная новизна исследования: Впервые получена новая лекарственная форма композиции на основе иммуномодулирующего препарата тимогар, подорожника большого и мяты перечной, которой по результатам проведенных исследований показателей качества и доклиническим исследованиям целесообразно разработать технические условия и контроль качества.

По итогам исследований установлен биохимический состав основных групп биологически активных веществ (БАВ) подорожника большого и мяты перечной, композиции на их основе и препаратом тимогар. Установлены количественные показатели присутствия в композиции флавоноидов, аминокислот, антиоксидантных свойств.

Предварительными фармакологическими исследованиями композиции впервые определены токсичность совокупного экстракта мяты перечной и подорожника большого, а также его композиции с препаратом тимогар, способность композиции к улучшению биохимических и гематологических показателей крови мышей при экспериментальном сахарном диабете.

В первые установлено, что полученная композиция способна корректировать расстройств не только в иммунной системе, но и в системе кроветворения.

Теоретическая ценность исследования. В диссертации приведены теоретические аспекты исследования стратегия и выбор условий для использования метода синтеза производных тимогара, разработка композиции синтетических препаратов с БАВ состава лекарственных растений, связанные с температурой, условий реакции, влияние растворителей на продукт реакции, чистота и изучение физических, химических и биологических свойств полученных веществ.

Практическая ценность исследования. Итоги исследования показывают, что композиция препарата тимогар подорожником большим и мятой перечной обладает иммуномодулирующим эффектом и может использоваться для коррекции связанных с иммунной системой состояний при разнообразных заболеваниях, имеет перспективу использования в качестве биологически активных добавок в медицине.

Положения, выносимые на защиту:

- методика синтеза дипептида изолейцил-триптофан;
- обоснование схемы сбора композиции на основе препарата тимогар и экстрактов лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной;
- показатели качества композиции;
- биологические свойства композиции.

Личный вклад соискателя: Состоит в формулировке исследовательских задач, выборе метода получения пептидов, в выборе оптимального вари-

анта составления композиции на основе известного препарата и лекарственных растений, методологии и выполнении экспериментов, в сборе и обработке результатов экспериментов, составлении выводов диссертации. Подготовка к печати научных работ, отражающих результаты диссертационной работы, осуществлена автором самостоятельно или при участии соавторов.

Апробация диссертации и информация об использовании её результатов: Основные положения диссертации представлены и обсуждены на семинарах кафедры органической и биологической химии химического факультета Таджикского государственного педагогического университета имени С.Айни, кафедры естественных наук Государственного педагогического института Таджикистана в Раштском районе, на Республиканской научно-практической конференции, ТНУ, фармацевтический факультет, март, 2018г, 10-ой Годичной республиканской научно-практической конференции «Достижения медицинской отрасли Таджикистана за период независимости», посвященной 27-летию Государственной Независимости Республики Таджикистан и Году развития туризма и народных ремесел. Республиканский медицинский колледж, 25-26 декабря 2018г.

Опубликование результатов диссертации: По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, из них 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК Республики Таджикистан.

Структура и объём диссертации: Диссертация изложена на 121 страницах компьютерного набора и содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 3-и главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и списка цитированной литературы, включающего 156 источников, в том числе 134 русскоязычных и 22 иностранных авторов. Количество таблиц 9, рисунков 19.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ РАБОТЫ

Введение состоит из обоснования актуальности научного исследования, сформулированы цель работы, её научная новизна, практическая значимость, приведены данные о научных конференциях, где были доложены и обсуждены главные результаты диссертационной работы.

В **первой главе** дается литературный обзор характеристике состояний иммунодефицита и роли биологически активных веществ (БАВ) лекарственных растений в коррективке расстройств иммунной системы, основным методом синтеза пептидов, физико-химическим методам анализа БАВ лекарственных растений, существующих композиций на базе иммуноактивных БАВ, иммуномодулирующих препаратов тимусного происхождения, обоснован выбор объектов и методов исследований.

Во **второй главе** излагаются использованные материалы и методы получения дипептида изолейцил-триптофан H-Ile-Trp-OH азидным методом, ком-

позиции на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной. Подробно приводятся методики синтеза дипептида, изучения качественного и количественного составов, биологических свойств композиции.

При синтезе были использованы аминокислоты L-ряда и производные аминокислот («Reanal», Венгрия). Спектрометрические измерения проводились на спектрометре СФ-46. Хроматографические исследования – на хроматографических пластинках «Silufol UV-254» («Chemapol», Чехия). В качестве элюентов использовались системы: А) хлороформ: метанол: уксусная кислота (60:45:20) и Б) пиридин: уксусная кислота: вода: *n*-бутанол (20:6:24:30). Очистку дипептида *N*-Ile-Trp-OH также осуществляли с помощью ВЭЖХ на обращенно-фазовой колонке 250 x 16 мм, заполненной силикагелем Силасорб С₁₈, в градиенте ацетонитрил- ацетатаммонийного буфера (рН 6,8) от 10 до 50% при скорости потока 14 мл/мин при длине волны 220 нм. Аналитическую ВЭЖХ проводили на колонке UltrasphereODS (4,4 x 50 мм). Идентификация дипептида проводилась методом масс-спектрометрии.

В качестве материалов для получения композиции использовали листья и стебель подорожника большого (*Plantago major* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.), собранных в августе 2016 года в Раштской долине Таджикистана, иммуномодулирующий препарат тимогар. Для получения суммарных водных и водно-спиртовых (70%) экстрактов композиции на основе суммарного экстракта БАВ подорожника большого и мяты перечной компоненты лекарственных трав брали в соотношении 1:1, а композицию - путем добавления в 0,3 г суммарного экстракта трав 100 мкг препарата тимогар. Сушка производилась стандартным вакуумным методом.

Все эксперименты проводились не менее, чем в 6-х повторностях. Результаты обработаны методами статистики с применением компьютерных программ «Statistica 6.0» и Excel.

Результаты синтеза дипептида изолейцил-триптофан, обоснование схемы сбора композиции на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной, идентификации, изучения качественного и количественного составов полученной композиции, а также ее биологических свойств приведены в третьей главе.

Синтез дипептида изолейцил - триптофан был проведен азидным методом. Для синтеза изолейцил-триптофана этим методом получили гидразид соединения *N*- изолейцина следующим образом:

Азид соединения карбобензоксил изолейцина получили при действии азотистой кислоты и в реакционную среду добавляли хлоргидрат метилового эфира триптофана и по завершению реакции смесь сперва упаривали на ротатор-испарителе при низких значениях давления и температуры. Полученную смесь затем разводили в этилацетате и промывали 0,5% NaHCO₃ и 1% раствором соляной кислоты, насыщенным раствором Na₂SO₄ и сушили над безвод-

ным сульфатом натрия в течение 2 час. Затем полученную смесь отфильтровали и упаривали на ротормном испарителе при низких значениях атмосферного давления и температуры. Получен аморфный продукт.

Окончательную очистку защищенного дипептида осуществляли колончатой хроматографией на силикагеле L-100/160 при элюировании первоначально хлороформом, а затем смесью этилацетата бензола (3:2). Фракции, содержащие основной продукт, упаривали.

Защищенный дипептид подвергали каталитическому гидрированию в присутствии 10%-ного Pd/C катализатора. Для окончательного деблокирования дипептида метиловым эфиром изолейцил хлоргидрата изолейцил триптофана использовали метод омыления с помощью 0,1 н NaOH . Процесс омыления наблюдали методом тонкослойного хроматографирования. После снятия защитных групп очистку провели способом переосаждения из спирта изопроанола. Чистоту проверяли с помощью ВЭЖХ. Время выхода полученных аморфных соединений составило 15,31 мин. УФ-спектрограмма дипептида изолейцил-триптофан представлена на рисунке 1. Структура дипептида была подтверждена данными масс-спектроскопии.

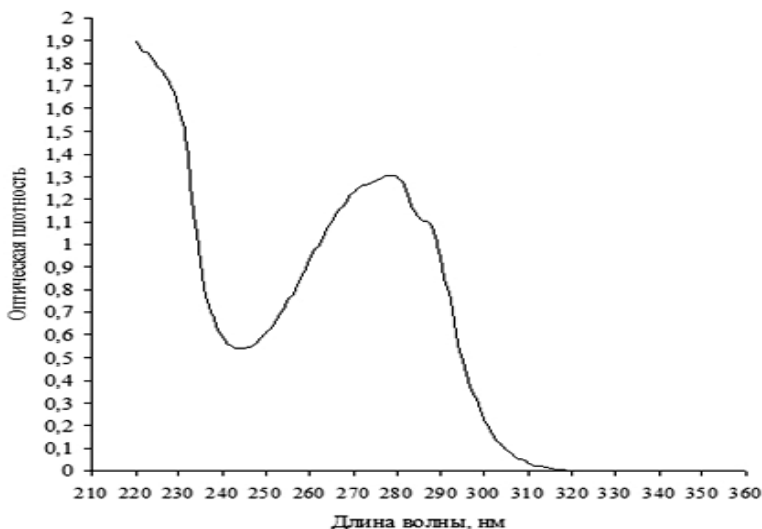


Рисунок 1. УФ-спектры поглощения препарата тимогар

Таким образом, можно сделать вывод, что азидным методом можно получить дипептид изолейцил-триптофан с хорошим выходом и практически без степени рацемизации, а также в чистом виде, который соответствует био-

логической активностью и другим физико-химическим характеристикам ранее полученному [Бобиев Г.М., 2000] своему аналогу.

Далее приведена методика и обоснована схема получения искомой композиции препарата тимогар с лекарственными растениями. Компоненты подорожник большой и мяты перечная взяты в одинаковых пропорциях с целью сохранения ими содержания БАВ, особенно в большей степени содержания флавоноидов и суммы аминокислот. Водно-спиртовый экстракт растений подорожника и мяты перечной с 70% этилового спирта оказался оптимальным с точки зрения вытяжки многокомпонентного состава, что выразилось определенностью на УФ- спектрограммах. Что касается препарата тимогар, то эта доза считается оптимальной по терапевтической эффективности в водных инъекциях.

На следующем этапе работы осуществлен качественный анализ суммы экстрактов подорожника большого и мяты перечной, а также их композиции с препаратом тимогар.

Спектральная кривая экстрактов подорожника и мяты строилась в координатах $D(\lambda)$ (рисунок.2). В УФ-спектрах водного суммарного экстракта подорожника и мяты наблюдаются максимумы поглощения света $D=0,205$ при $\lambda=281\pm 2$ нм и плечо при 348 нм, а в УФ-спектрах водно-спиртового раствора $D=0,432$ при $\lambda=206\pm 2$ нм и плечо при 215 нм; $D=0,185$ при $\lambda=285\pm 2$ нм (рисунок. 2). Имеются минимумы поглощений УФ-спектров водного экстракта подорожника и мяты при $\lambda=257$ нм; а водно-спиртового - при $\lambda=237\pm 2$ нм и $\lambda=254\pm 2$ нм.

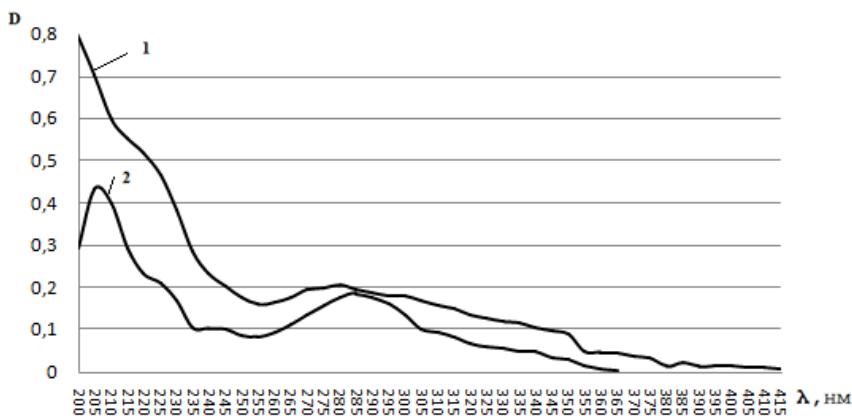


Рисунок 2. УФ-спектры жидких суммарных экстрактов подорожника большого и мяты перечной: 1 – водный раствор, 2 – водно-спиртовый раствор

Определение полученных органических веществ проводилось, согласно практике, по максимумам поглощений. Так максимум поглощения водного раствора 281 нм (тип перехода $n \rightarrow \pi^*$) соответствует границе пропускания 280-285(± 2 нм) ароматических соединений, имеющих бензольную или гетероциклическую структуру, а водно-спиртового раствора при 206 ± 2 нм (тип перехода $n \rightarrow \sigma^*$) - границе пропускания спирта (алканы и насыщенные соединения с гетероатомами), а при 285 ± 2 нм – ароматическим соединениям.

На хроматограммах композиции, при использовании системы А) образовалось одно подвижное пятно с $R_f = 0,52$ от линии старта, а при использовании системы Б) - 3 пятна с $R_f = 0,73; 0,50; 0,06$. Полученные значения удовлетворяют требованиям к принимаемым значениям R_f : различие в значениях R_f должно быть не менее 0,05 и, желательно, чтобы значения R_f находились в пределах 0,05-0,85.

Результаты УФ - спектрального анализа композиции препарата тимогар и суммы экстрактов и приведены в таблице 1. В качестве растворителя использован этанол (95%).

Таблица 1. основные спектральные характеристики раствора стандартного образца препарата тимогар и суммы экстрактов подорожника большого и мяты перечной (максимумы)

Длина волны, нм	Оптическая плотность	Коэффициент молярного поглощения $\lg \epsilon$	Концентрация раствора, %
207 ± 2	0,405	4,201	0,01
218 ± 2	0,270	4,007	0,01
225 ± 2	0,310	4,057	0,01
249 ± 2	0,050	3,274	0,01
278 ± 2	0,735	4,214	0,001

Показатели качества композиции при ИК-спектроскопии оказались следующими: 3312 см^{-1} (валентные колебания ОН и NH групп); 1735 см^{-1} (валентное колебание С=О (алифатические, сложные эфиры), аминокислоты); 1660 см^{-1} , 1640 см^{-1} (валентное колебание С=О (амид I; валентное колебание N-C, флавоны, аминокислоты); 1594 см^{-1} , 1519 см^{-1} (скелетные колебания ароматических углерод-углеродных связей, хиноны); 822 см^{-1} (деформационные колебания СН ароматического кольца (пара-замещение), циклические эфиры).

В продолжении исследований по определению показателей качества суммы флавоноидов и изучения её антиоксидантных свойств.

Для идентификации и сравнительных расчетов был использован спиртовой экстракт композиции с алюминия хлоридом. Предварительно

был измерен УФ-спектр композиции (рисунок. 2). В итоге обнаружено, что максимальная оптическая плотность УФ-спектра собственного поглощения спиртового извлечения искомой композиции имеет значение, почти одинаковое с максимумом УФ-спектра раствора цинарозида 395 нм, считающимся стандартом.

Выявлено, что оптимальный режим для экстракции флавоноидов следующий: в роли экстрагента выбран спирт этиловый 70%, с пропорцией композиции и экстрагента 1:20, продолжительность экстракции 30 мин., при нахождении в подогреваемой водяной бане. Образование координационного соединения флавоноидов с хлоридом алюминия продолжается на протяжении 30 мин., стабильность сохраняется на протяжении 1 часа.

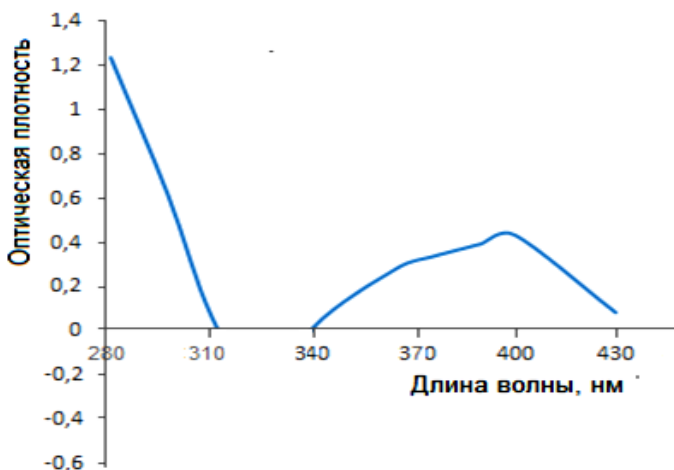


Рисунок 3. УФ-спектры флавоноидов КТНМ с алюминия хлоридом

Содержание флавоноидов в композиции, вычисленное при экстракции его 70% спиртом составило 2,43% в пересчете на цинарозид.

Далее методом йодометрического титрования было определено содержание витамина С в составе композиции. При вычислении наличия витамина С в композиции воспользовались уравнением:

$$M = ((n \cdot \text{Э}) / 1000) \cdot V,$$

где: n – молярная концентрация эквивалента йода; Э – молярная концентрация эквивалента витамина С, равная 88г; V – объем, отведенного на титрование йода, мл.

Провели 6 параллельных опытов из 6-ти навесок композиции и по итогам статистических вычислений содержание аскорбиновой кислоты в

композиции в среднем оказалось около 0,038 г/100 г. а.с.в., что примерно равно сельдерее.

Другим важнейшим показателем биологической активности лекарственных растений средств является присутствие аминокислот - органических соединений, нужных для формирования белков, активных групп ферментов, витаминов, фитонцидов и др.

Исследуемая композиция КТПМ включает в себя препарат тимогар (изолейцил-триптофан, химическая формула H-Phe-Trp-OH), состоящий из незаменимых аминокислот: L-триптофан (α -амино- β -индолилпропионовая кислота, Trp) и L-аминокислотного остатка изолейцина (2-амино-3-метилпентановая кислота, 2-амино-3- метилвалериановая кислота Phe. Согласно литературным данным, в составе экстрактов выбранных нами лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной содержатся 14 аминокислоты.

Сумма аминокислот была определена методом формольного титрования. По результатам испытания 6 проб композиции и статистической обработки средняя сумма совокупности свободных аминокислот в композиции препарата тимогар с лекарственными растениями подорожника большого и мяты перечной составила 1,84% в пересчете на 100г пробы.

Далее изложены результаты изучения биологических свойств полученной композиции.

Ранее [Бобиев Г.М, 1998] было установлено, что препарат тимогар в дозах в 10000 раз превышающей терапевтической дозы для человека, является практически нетоксичным, и, учитывая, что при изучении острой токсичности суммарных водного и водно-спиртового экстрактов подорожника большого и мяты перечной выявились почти одинаковые результаты, а также то, что проведенная методом спектрофотометрии идентификация составов водно-спиртового экстрактов подорожника большого и мяты перечной была более определенной (кривая поглощения имеет максимумы и минимумы), чем у водного экстракта, приступили к исследованию острой токсичности композиции на основе этого препарата и суммарного водно-спиртового экстракта выбранных трав.

Острую токсичность изучали на 96 беспородных мышах обоего пола массой 18–22г при пероральном способе введения растворов СЭПБМПВ и СЭПБМПВС в следующих дозах: 150, 500, 800, 1500, 2500, 3000, 5000 мг/кг. Каждая доза исследовалась в группе из 6 животных (3 самца и 3 самки), всего 16 групп. Наблюдение за состоянием животных проводили в течение 14 дней. Для расчета параметров острой токсичности использовали метод пробит - анализа по Литчфильду и Уилкоксону, который основан на учете смертности животных от вводимых доз изучаемого препарата. Установлено, что суммарные экстракты трав подорожника большого и мяты перечной соответствуют 6 –му классу опасности (относительно безвредно), а по степени токсичности $DL_{50} > 5000$ мг/кг.

Изучение острой токсичности композиции также проводили на 36 беспородных мышах обоего пола массой 18–22 г при пероральном способе введения раствора композиции в следующих дозах: 1000, 2000, 3000, 5000 мг/кг. Каждая доза исследовалась в группе из 6 животных (3 самца и 3 самки), всего в эксперименте было задействовано 36 животных (12 животных составляли группы контроля). За мышами наблюдали на протяжении 2-х недель после введения и о токсичности композиции судили по гибели мышей и общей картине интоксикации: внешнее поведение мышей, восприятие питания, изменения веса, подвижность, вид шерстного покрова и слизистых оболочек. В течение всего периода контроля общее состояние и поведение подопытных животных не отличались от таких же показателей в контрольных группах.

Динамика принятия корма и воды у мышей не имела заметного различия по сравнению с контрольными группами. Динамика веса мышей, получавших композицию, тоже не имела заметного различия от показателей у других животных в контрольных группах.

На протяжении 14 суток смертности среди подопытных мышей не наблюдалось, в этой связи установить LD_{50} не представилось возможным. Поскольку при дозе 5000 мг/кг не отмечалась гибель ни одного животного, согласно ГОСТ 12.1.007-76 можно отнести композицию к 6 классу опасности (относительно безвредно) [Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: ГОСТ 12.1.007-76,2]

На следующем этапе работы было изучено влияние КТПМ на биохимические и гематологические показатели крови при экспериментальном сахарном диабете. Опыты проводились на 15 беспородных белых мышах-самцах массой 18-22 г, условия содержания – с обычным рационом питания вивария Ветеринарный Институт Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана

Экспериментальный сахарный диабет СД1 был вызван у мышей внутрибрюшинным введением моногидрата аллоксана (Хавинсон В.Х., 2000) 0,95-го нормального солевого раствора в дозе 200 мг/кг.

На 10-е сутки после введения аллоксана начали проводить опыты по изучению влияния КТПМ на биохимические и гематологические показатели крови мышей ежедневным пероральным введением им внутрибрюшинно суспензию в соотношении 1:10 в дистиллированной воде сухого порошка композиции с дозой 0,2 мл/мышь однократно в день. Измерение показателей крови мышей проводили на 7-е и 14-е сутки после начала применения КТПМ. Забор крови для анализа выполняли утром натощак из хвостовой вены в количестве 10 мл без добавления консерванта.

Гематологические и биохимические измерения сыворотки крови подконтрольных мышей (табл. 2, 3) при экспериментальном СД1 на 7-ие и 14-ие сутки введения композиции КТПМ показали, что имеется определенная динамика приближения их к норме.

Было обнаружено, что уровни эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов в крови мышей при СД1 были выше нормы в 1,3, 1,08 и 2,3 раза (табл. 2). Под действием КТПМ на 14-ие сутки названные показатели имели значения соответственно 1,1;1,03;1,19.

Таблица 2. Гематологические показатели крови при пероральном применении КТПМ мышам

Показатель	до опыта (на 10-е сутки после введения аллоксана)	на 7-ие сутки после опыта	на 14-ие сутки после опыта	норма
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	9,1 \pm 0,71	8,6 \pm 0,86	7,7 \pm 0,42	7,0 \pm 0,5
Гемоглобин, г/л	120 \pm 2,76	118 \pm 2,42	115 \pm 2,42	111 \pm 4
Тромбоциты, $\times 10^9/мкл$	394 \pm 2,67	391 \pm 2,27	389 \pm 2,17	371 \pm 17
Лейкоциты, $\times 10^9/мкл$	7,1 \pm 0,64	5,9 \pm 0,56	3,7 \pm 0,21	3,1 \pm 0,3
Лимфоциты, %	83 \pm 0,18	75 \pm 0,16	68 \pm 0,12	63 \pm 2
СОЭ, мм/ч	8,1 \pm 0,12	7,7 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1	2,0 \pm 0,1

$p < 0,05$

Таблица 3. Биохимические показатели крови при пероральном применении композиции мышам.

Показатель	до опыта (на 10-е сутки после введения аллоксана)	на 7-ие сутки после опыта	на 14-ие сутки после опыта	норма*
Билирубин общий, мкмоль/л	5,65 \pm 0,30	4,87 \pm 0,26	4,33 \pm 0,22	3,9 \pm 0,2
Мочевина, ммоль/л	13,2 \pm 0,53	9,3 \pm 0,35	8,1 \pm 0,27	7,4 \pm 0,2
Креатинин, мг/дл	0,54 \pm 0,57	0,46 \pm 0,34	0,31 \pm 0,27	0,28 \pm 0,02
АЛТ, ед./л	205 \pm 0,81	171 \pm 0,73	109 \pm 0,68	51 \pm 1
АСТ, ед./л	206 \pm 2,7	185 \pm 2,5	146 \pm 2,1	111 \pm 3
Общий белок, г/л	41 \pm 1,3	48 \pm 1,1	52 \pm 0,9	57 \pm 0,8
Альбумин, г/л	13 \pm 0,65	16 \pm 0,4	18 \pm 0,5	19 \pm 0,6
Глюкоза, ммоль/л	9,3 \pm 0,33	7,6 \pm 0,31	5,7 \pm 0,28	4,7 \pm 0,3
Калий, ммоль/л	5,2 \pm 0,17	5,8 \pm 0,15	6,1 \pm 0,14	6,9 \pm 0,2
Натрий, ммоль/л	118 \pm 6,12	122 \pm 5,07	125 \pm 4,16	133 \pm 7
Кальций, ммоль/л	5,25 \pm 0,06	4,18 \pm 0,06	2,34 \pm 0,06	1,85 \pm 0,06
Холестерин общий, ммоль/л	4,6 \pm 0,67	3,7 \pm 0,53	3,1 \pm 0,46	2,7 \pm 0,1

$p < 0,05$

Показатели глюкозы и АСТ на 10-ие сутки после введения аллоксана были в два раза, АЛТ – в 4 раза, холестерина в 1,7 раза выше нормы, а общего

белка – в 1,4 раза ниже нормы (табл. 3), на 14-е сутки после применения КТПМ данные показатели соответственно составляли 1,2; 1,3; 2,1; 1,1 выше нормы, а общего белка – 1,09 ниже нормы.

Анализ показателей показывает позитивный характер изменений и устремленность к нормализации основных биохимических показателей крови мышей при применении КТПМ, т.е. его терапевтический эффект при модельной аллоксановой сахарной болезни. Следовательно, искомая композиция обладает терапевтическим эффектом при лечении сахарного диабета СД1. Изучение активности композиции на основе препарата тимогар, подорожника большого и мяты перечной (КТПМ) проводили в соответствии с требованиями к исследованиям веществ с иммуотропной активностью. Было оценено влияние КТПМ на число антител в периферической крови мышей, иммунизированных эритроцитами барана (ЭБ). Также была изучена иммуностимулирующая активность исследуемых средств при моделировании вторичных иммунодефицитов у мышей.

Мы изучили воздействие средств на рост накопления антител к ЭБ в периферической крови мышей. Обнаружено, что уже на 5-е сутки после иммунизации под действием этих средств количество титра антител к ЭБ увеличивается (рисунок. 4). Для опыта были выбраны 100 самцов мышей линии СВА (n=10) массой 18–22 г. Сухой концентрат КТПМ, разведенный физиологическим раствором, вводили внутривенно (в/б) мышам в дозах терапевтической – 20 мкг и пятикратной терапевтической – 100 мкг один раз в день перед иммунизацией эритроцитами барана (2×10^8 в/б). Мышам контрольной группы вводили 100 мкл физиологического раствора. Активность КТПМ сравнивали с иммуностимулирующими свойствами препарата тимогар, который вводили в дозе 20 и 100 мкг/кг однократно в/б. Антигеном послужили эритроциты барана (ЭБ), которые брали у животных из яремной вены в стерильные флаконы с консервантом. ЭБ держали в хранении в течение 7-10 дней при температуре +4°C.

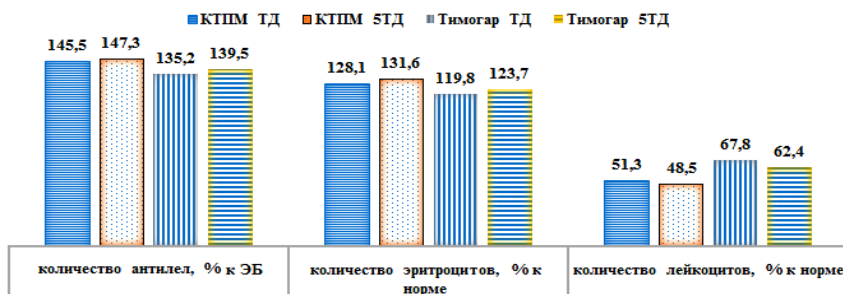


Рисунок 4. Влияние КТПМ и препарата тимогар в терапевтической (ТД) и 5-ти кратной терапевтической (5ТД) дозах на формирование антител к ЭБ в периферийной крови мышей линии СВА (n=10) на 5-ие сутки

Вторичные иммунодефициты у мышей были вызваны при модельных лучевой болезни, острого токсического гепатита, гемолитической анемии и ожоговой болезни. Подбор дозировок КТПМ основан на рекомендациях и дозах ближайшего к КТПМ препарата тимогар – 50-100 мкг при внутрибрюшинном (в/б) введении 1 раз в сутки. Титр антител к ЭБ в периферийной крови контрольной группы составлял $4,8 \pm 0,4$.

Результаты изучения влияния композиции КТПМ и препарата тимогар (для сравнения) на иммунологические и гематологические показатели периферийной крови мышей посредством их ввода в/б в дозе 100 мкг/кг при названных модельных болезнях, в качестве примера, на рисунке 5 отражены при лучевой болезни. Из рисунка видно, что титр антител к ЭБ, количество эритроцитов и лейкоцитов имеют тенденцию к повышению под влиянием КТПМ более выражено, чем препарат тимогар. Такие же закономерности наблюдались при изучении КТПМ и тимогар на других модельных болезнях мышей.



Рисунок 5. Воздействие КТПМ, препарата тимогар на иммунологические и гематологические показатели периферийной крови мышей при экспериментальной лучевой болезни.

Подводя итоги экспериментов по вышеназванным болезням можно сделать вывод о том, что испытуемая композиция обладает активностью корректировать расстройства не только в иммунной системе, но и в системе кроветворения, и более выражено, чем препарат тимогар.

В заключении диссертации приведены основные научные результаты:

В начале исследований нами было проведено опробование синтеза и получения дипептида изолейцил-триптофан (тимогар) ранее неиспользованным для получения этого дипептида метода – азидным методом. Азидный метод

считается среди других классических методов одним из тех, при котором не наблюдается процесс рацемизации. Результаты проведенных экспериментов показали идентичность качественных и количественных параметров при физико-химических методах изучения полученного дипептида (ВЭЖХ, спектрограммы) с теми, которые были получены с использованием смешанных ангидридов, активированных эфиров [Бобиев Г.М., 2000].

Композиция из иммуномодулирующего препарата тимогар с лекарственными растениями подорожник большой и мята перечная была создана перебором нескольких вариантов соотношений компонентов и наилучшим оказался вариант, при котором для получения суммарных водных и водно-спиртовых (70%) экстрактов композиции на основе суммарного экстракта БАВ подорожника большого и мяты перечной компоненты лекарственных трав брали в соотношении 1:1, а композицию - путем добавления в 0,3 г суммарного экстракта трав 100 мкг препарата тимогар. Сушка производилась стандартным вакуумным методом.

Компоненты подорожника большого и мяты перечной взяты в одинаковых пропорциях с целью сохранения ими содержания БАВ как в отдельности, так и вместе, что касается препарата тимогар, то эта доза считается оптимальной с точки зрения его терапевтической эффективности в водных инъекциях.

Изучение экстрактов растительных лекарств большинстве случаев проводят в УФ- и видимой частях спектра. На практике молекулы органической природы в УФ области спектра (200-400 нм) имеются одна или несколько полос поглощения. Полосы поглощения в дальней УФ области обусловлены поглощением квантов света с более высокой энергией и показывают переходы электронов на более высоковозбужденные синглетные уровни энергии. Определение полученных органических веществ проводилось, согласно практике, по максимумам поглощений. В качестве элюентов использовались системы: А) хлороформ: метанол: уксусная кислота (60:45:20) и Б) пиридин: уксусная кислота: вода: *n*-бутанол (20:6:24:30).

Пик поглощения водного настоя 281 нм (тип перехода $n \rightarrow \pi^*$) аналогичен пределам пропускания 280-285(± 2) нм ароматических соединений, состоящих из бензольной или гетероциклической структуры, а водно-спиртового настоя при 206 ± 2 нм (тип перехода $n \rightarrow \sigma^*$) - границе пропускания спирта (алканы и насыщенные соединения с гетероатомами), а при 285 ± 2 нм – ароматическим соединениям.

На хроматограммах композиции, при использовании системы А) образовалось одно подвижное пятно с $R_f = 0,52$ от линии старта, а при использовании системы Б) 3 пятна с $R_f = 0,73; 0,50; 0,06$. Полученные значения удовлетворяют требованиям к принимаемым значениям R_f : различие в значениях R_f должно быть не менее 0,05 и, желательно, чтобы значения R_f находились в пределах 0,05-0,85.

На основании проведенного изучения нами были сделаны следующие выводы:

- методом УФ-спектроскопии произведена идентификация компонентов, входящих в состав суммарных экстрактов подорожника большого и мяты перечной;

- тонкослойным хроматографическим методом определены значения основной характеристики - R_f разделяемых компонентов суммарных экстрактов.

Результаты качественного анализа композиции методом УФ-спектрометрии показали, что исследуемая композиция при концентрации препарата тимогар в растворе 0,01% имеет 4 максимума и согласно литературе имеет многоядерную ароматическую структуру. При концентрации 0,001 пик спектра поглощения структура композиции соответствует тимогару.

При концентрации раствора 0,01% спектры поглощения с $\lambda_{\text{макс}} = 207 \pm 2$ нм, $\lg \epsilon = 4,201$ соответствует спектру ароматических соединений с исходной системой, с $\lambda_{\text{макс}} = 218 \pm 2$ нм, $\lg \epsilon = 4,007$ - соответствует $\pi \rightarrow \pi^*$ (разрешенный) переходу, а структура - монозамещенному бензолу, с $\lambda_{\text{макс}} = 225 \pm 2$ нм, $\lg \epsilon = 4,057$; $\lambda_{\text{макс}} = 278 \pm 2$ нм, $\lg \epsilon = 4,214$ характеризуют соединения с сопряженными связями, с $\lambda_{\text{макс}} = 225 \pm 2$ нм, $\lg \epsilon = 4,057$ - соответствует $\pi \rightarrow \pi^*$ (делокализованный ароматическим кольцом заместитель, К-полоса) переходу, структура - монозамещенному бензолу, кроме того максимум поглощения с такой длиной волны характерен для некоторых флавоноидов, с $\lambda_{\text{макс}} = 249 \pm 2$ нм, $\lg \epsilon = 3,274$ - соответствует спектру ароматических гетероциклических соединений с исходной системой. При концентрации раствора 0,001% спектр поглощения с $\lambda_{\text{макс}} = 278 \pm 2$ нм, $\lg \epsilon = 4,214$ соответствует стандартному спектру ароматических соединений с исходной системой, максимум поглощения при 280 нм характерен фенольным соединениям (дубильные вещества). Поглощение растворителя этанола в УФ области составляет 205 нм. Показатели качества композиции при ИК-спектроскопии оказались следующими: 3312см^{-1} (валентные колебания ОН и NH групп); 1735см^{-1} (валентное колебание С=О (алифатические, сложные эфиры), аминокислоты); 1660см^{-1} , 1640см^{-1} (валентное колебание С=О (амид I; валентное колебание N-C, флавоны, аминокислоты); 1594см^{-1} , 1519см^{-1} (скелетные колебания ароматических углерод-углеродных связей, хиноны); 822см^{-1} (деформационные колебания СН ароматического кольца (пара-замещение), циклические эфиры).

На стадии определения количественных показателей качества исследуемой композиции были взяты во внимание тот факт, что в фармакогностическом анализе считается целесообразным установить сумму биологически активных веществ (БАВ), дающих терапевтический эффект в сумме. В соответствии с информацией из литературных источников подорожник большой и мята перечная имеют в своем составе из основных БАВ флавоноиды, дубильные вещества, полисахариды, органические кислоты и аминокислоты.

Флавоноиды обладают значительными антиоксидантными свойствами, в частности, связывают свободные кислородные радикалы и предохраняют окисление липидов в мембранах клеток и межклеточных структурах рогового слоя, т.е. являются важной антиоксидантной характеристикой лекарственных средств. Нами была поставлена цель изучить антиоксидантные свойства композиции препарата тимогара с экстрактами лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной, численно определить в ее содержании величины флавоноидов.

В работе как один из основных методов служит метод спектрометрии, являющийся универсальным, и соответствующей Фармакопейной статье XI. Спектрометрические измерения проводились на спектрометре СФ-46.

Для идентификации и сравнительных расчетов был использован спиртовой экстракт композиции с алюминия хлоридом, учитывая то, что при формировании координационных соединений флавоноидов с алюминия хлоридом полоса поглощения флавоноидов переносится с 330-350 нм до 390-410 нм.

Предварительно был измерен УФ-спектр композиции. В итоге обнаружено, что максимальная оптическая плотность УФ-спектра собственного поглощения спиртового извлечения искомой композиции имеет значение почти одинаковое с максимумом УФ-спектра раствора цинарозида 395 нм, считающимся стандартом.

Выявлено, что оптимальный режим для экстракции флавоноидов следующий: в роли экстрагента выбран спирт этиловый 70%, с пропорцией композиции и экстрагента 1:20, продолжительность экстракции 30 мин. при нахождении в подогреваемой водяной бане. Образование координационного соединения флавоноидов с хлоридом алюминия продолжается на протяжении 30 мин, стабильность сохраняется на протяжении 1 часа.

По итогам вычислений и статистической обработки сумма флавоноидов в пересчете на цинарозид составил 2,43 %.

Далее была изучена антиоксидантная активность композиции КТПМ по наличию витамина С методом йодометрического титрования. Провели 6 параллельных опытов из 6-ти навесок композиции и по итогам статистических вычислений содержание аскорбиновой кислоты в композиции в среднем оказалось около 0,038 г/100г. а.с.в., что примерно равно сельдерее.

Таким образом, определен важнейший показатель биологической активности композиции на основе препарата тимогар с лекарственными растениями подорожника большого и мяты перечной - совокупность флавоноидов, что предопределяет перспективу разработки лекарственного препарата в таком составе.

Другим важнейшим показателем биологической активности лекарственных растений средств является присутствие аминокислот - органических соединений, нужных для формирования белков, активных групп ферментов, витаминов, фитонцидов и др. Исследуемая композиция КТПМ включает в себя

препарат тимогар (изолейцил-триптофан, химическая формула H-Пе-Трp-ОН), состоящий из незаменимых аминокислот: L-триптофан (α -амино- β -индолилпропионовая кислота, Трp) и L-аминокислотного остатка изолейцина (2-амино-3-метилпентановая кислота, 2-амино-3-метилвалериановая кислота Пе. Изолейцин присутствует во всех организмах в белках и пептидах. Согласно литературным данным, в составе экстрактов выбранных нами лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной содержится 14 аминокислоты, среди них и «незаменимые» лейцин, лизин и др. и, следовательно, имеющиеся в составе композиции аминокислоты относятся к числу свободных аминокислот и как указано выше, считаются важнейшими для функционирования организма человека.

При определении суммы аминокислот в исследуемой композиции воспользовались методом формольного титрования.

По результатам исследования 6 проб композиции и статистической обработки средняя сумма совокупности свободных аминокислот в композиции препарата тимогар с лекарственными растениями подорожник большой и мята перечная составила 1,84% в пересчете на 100г пробы.

Следующей частью выполненной работы является исследование биологических свойств композиции на основе препарата тимогар и лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной.

Острую токсичность созданной композиции изучали в двух этапах – сначала острую токсичность суммарных экстрактов подорожника большого и мяты перечной, а затем непосредственно самой композиции.

Исследования острой токсичности LD₅₀ проводили по общепринятому методу. Острую токсичность изучали на 96 беспородных мышках обоего пола массой 18–22 г при пероральном способе введения растворов СЭПБМПВ и СЭПБМПВС в следующих дозах: 150, 500, 800, 1500, 2500, 3000, 5000 мг/кг.

По итогам испытаний установлено, что суммарные экстракты трав подорожника большого и мяты перечной по 6 –му классу опасности (относительно безвредно) по степени токсичности DL₅₀ > 5000 мг/кг.

Известно, что препарат тимогар в дозах в 10000 раз превышающей терапевтической дозы для человека, является практически нетоксичным, и, учитывая, что при оценке острой токсичности суммарных водного и водно-спиртового экстрактов подорожника большого и мяты перечной выявились почти одинаковые итоги, а также то, что проведенная методом спектрофотометрии идентификация составов водно-спиртового экстрактов подорожника большого и мяты перечной была более определенной (кривая поглощения имеет максимумы и минимумы), чем у водного экстракта, приступили к оценке острой токсичности композиции на основе этого препарата и суммарного водно-спиртового экстракта выбранных трав.

Поскольку при дозе 5000 мг/кг не отмечался летальный исход средимышей, то по ГОСТ 12.1.007-76 токсичность композиции соответствует 6 классу опасности (относительно безвредно).

Выполненные исследования установили, что композиция в исследованных дозах не оказывает токсического действия на подопытных мышах и подтверждают важность дальнейшего изучения иммуноактивных свойств выбранной композиции.

Далее было изучено влияние композиции на основе препарата тимогар, подорожника большого и мяты перечной на биохимические и гематологические показатели крови при экспериментальном сахарном диабете.

Опыты проводились на 15 беспородных белых мышях-самцах массой 18-22 г, условия содержания – с обычным рационом питания вивария Ветеринарный Институт Академии сельскохозяйственных наук Таджикистана.

Экспериментальный сахарный диабет СД1 был вызван у мышей внутрибрюшинным введением моногидрата аллоксана 0,95-го нормального солевого раствора в дозе 200 мг/кг.

На 10-е сутки после введения аллоксана начали проводить опыты по изучению влияния композиции на биохимические и гематологические показатели крови мышей ежедневным пероральным введением им внутрибрюшинно (в/б) суспензию в соотношении 1:10 в дистиллированной воде сухого порошка композиции с дозой 0,2 мл/мышь однократно в день.

Измерение показателей крови мышей проводили на 7-е и 14-е сутки после начала применения композиции.

Анализ крови мышей показывал позитивный характер изменений и устремленность к нормализации основных гематологических и биохимических показателей крови мышей при применении композиции, т.е. его терапевтического эффекта при модельной аллоксановой сахарной болезни.

Следовательно, искомая композиция обладает терапевтическим эффектом при лечении сахарного диабета СД1.

В завершении была выполнена работа по изучению иммуностимулирующей активности композиции препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной.

Было оценено действие КТПМ на число антител в периферической крови мышей после иммунизации их эритроцитами барана (ЭБ). Также была изучена иммуностимулирующая активность исследуемых средств при моделировании вторичных иммунодефицитных состояний у мышей.

Для опыта были выбраны 100 самцов мышей линии СВА (n=10) массой 18–22г. Сухой концентрат КТПМ, разведенный физиологическим раствором, вводили внутрибрюшинно (в/б) мышам в дозах терапевтической -20 мкг и пятикратной терапевтической - 100 мкг один раз в день до иммунизации эритроцитами барана (2×10^8 в/б). Мышам контрольной группы вводили 100 мкл физиологического раствора. Активность КТПМ сравнивали с иммуностиму-

лирующими свойствами препарата тимогар, который вводили в дозе 20 и 100 мкг/кг однократно в/б. Антигеном послужили эритроциты барана (ЭБ), взятые у животных из яремной вены в стерильные флаконы с консервантом. ЭБ держали в хранении на протяжении 7-10 дней при температуре +4⁰С. До начала иммунизации ЭБ 2-3 раза промывали в среде 199 на протяжении 10 минут при 1000 об/мин.

Мы изучили воздействие веществ на процесс накопления антител к ЭБ в периферической крови мышей. Обнаружено, что уже на 5-е сутки после иммунизации под влиянием испытываемых средств происходит рост титра антител к ЭБ. Подобная картина получена и на 7-е сутки после иммунизации мышей ЭБ.

Вторичные иммунодефициты у мышей были вызваны при модельных лучевой болезни, острого токсического гепатита, гемолитической анемии и ожоговой болезни. Подбор дозировок КТПМ основан на рекомендациях и дозах ближайшего к КТПМ препарата тимогар – 50-100 мкг при внутрибрюшинном (в/б) вводе 1 раз в сутки.

На следующем этапе провели исследование влияния композиции КТПМ и препарата тимогар (для сравнения) на иммунологические и гематологические параметры периферической крови мышей посредством их ввода в/б в дозе 100 мкг/кг, спустя 5 недель за иммунизацией ЭБ при названных модельных болезнях:

1) лучевая болезнь. На 5 сутки после иммунизации титр антител к ЭБ в группе контроля равнялся 4,8, число эритроцитов – 7,0, лейкоцитов – 3,1. Обнаружено, что при облучении титр антител в периферической крови к ЭБ уменьшился в 2,26 раз, число эритроцитов в периферической крови мышей уменьшается в 2,84 раза, а содержание лейкоцитов - в 2,58 раза, т.е. имеет место подавление процесса кроветворения. Под действием КТПМ титр антител к ЭБ поднимается в 1,71 раза, тимогара – 1,63 раза, количество эритроцитов под влиянием КТПМ увеличивается в 1,66 раза, а тимогара – в 1,58. КТПМ способствовала увеличению числа лейкоцитов в 1,69, а тимогара – в 1,64 раза.

2) острый токсический гепатит (ОТГ). При этой модельной болезни титр антител в периферической крови к ЭБ уменьшился в 2,12 раза, содержание эритроцитов - в 1,85 раза, а содержание лейкоцитов - в 1,76 раз относительно контрольных показателей. Под действием КТПМ титр антител к ЭБ поднимается в 1,55 раз, тимогара – 1,47 раз. Отсюда следует, что КТПМ владеет свойством увеличивать титр антител к ЭБ при ОТГ. Обнаружено, что КТПМ достоверно увеличивает содержание эритроцитов у мышей с ОТГ в 1,58 раз, тимогар – 1,47 раз; КТПМ увеличивает содержание лейкоцитов - в 1,62 раза, тимогар – в 1,57 раз.

3) гемолитическая анемия. Известно, что эта болезнь сопровождается снижением иммунитета организма. У мышей с такой болезнью иммунная реакция понижается в 3,54 раза, т.е. образуется вторичный иммунодефицит. Под

влиянием солянокислого фенилгидразина титр антител к ЭБ снижался в 1,89 раза, а после введения указанной композиции титр антител увеличивался в 1,75 раза, тимогара – в 1,7 раз. Выявлено, что при этой анемии содержание эритроцитов понижается в 2,16 раза. Под влиянием КТПМ количество эритроцитов по сопоставлению с предшествующим состоянием увеличивается в 1,85 раз, тимогара – 1,78 раз. Также выявлено, что при экспериментальной гемолитической анемии содержание лейкоцитов уменьшается в 1,53 раза. Испытуемая композиция у животных достоверно в 1,44 раза увеличивает содержание лейкоцитов, а тимогар – 1,37 раз.

4) ожоговая болезнь. При тепловом травмировании мышей образуется вторичный иммунодефицит. В процессе течения ожоговой травмы антителообразование подавляется в 1,86 раз. Ввод КТПМ способствует росту титров антител к ЭБ в 1,48 раз, а тимогара – в 1,42 раза. Обнаружено, что после теплового травмирования содержание эритроцитов в периферической крови понижается в 1,74 раза, а лейкоцитов - увеличивается в 1,38 раз. Под влиянием КТПМ количество эритроцитов достоверно увеличивается в 1,48 раз, тимогара - в 1,41 раз; КТПМ способствует понижению количества лейкоцитов в 1,28 раз, а тимогар – в 1,22 раза.

Подводя итоги экспериментов по вышеназванным болезням, можно констатировать, что испытуемая композиция владеет способностью корректировать расстройство в иммунной системе, стимулировать процессы кроветворения более выражено, чем препарат тимогар.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ОСЛОВНЫЕ НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИИ

1. Синтез низкомолекулярных пептидов азидным методом предотвращает рацемизацию в ходе процесса, дает хорошие выходы, а значит, имеет перспективу [4-А].

2. Разработанная схема создания композиции препарата тимогар с суммарными экстрактами биологически активных веществ подорожника большого и мяты перечной оказалась оптимальной по биологическим свойствам [6-А].

3. Фармако-токсикологические исследования композиции установили, что она нетоксична при рекомендуемых дозах перорального введения. Относится к 6-классу токсичности [5-А].

4. Установлено, что полученной композиции стимулирует в процессы кроветворения и повышает эффективность восстановления организма у лабораторных животных [3-А;6-А].

5. Установлено, что композиция позитивно влияет на гематологические и биохимические показатели крови мышей при экспериментальном сахарном диабете, т.е. приводит к нормализации [1-А].

6. Проведенные исследования иммуностропных свойств композиции на основе препарата тимогар, подорожника большого и мяты перечной показали, что она обладает выраженной активностью корректировать расстройства в иммунной системе [3-А].

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРАКТИЧЕСКОМУ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ

Азидный метод синтеза дипептида изолейцил-триптофан показал, что он имеет положительные стороны и вполне приемлем для синтеза низкомолекулярных пептидов.

Ныне для терапии многих заболеваний, вызванных появившимися расстройствами в работе иммунной системы, используются иммуноактивные препараты (тимогар, тимопентин, тимоцин, тимофер и др.), созданные на базе тимусных пептидов. Наряду с этим в медицинской практике широко применяются и препараты, созданные на основе биологически активных веществ известных иммуноактивными свойствами лекарственных растений.

Исходя из данных литературы по биологическим и фармакологическим свойствам препарата тимогар, применению при различных заболеваниях трав подорожника большого и мяты перечной, как отдельно, так и в составе различных комбинаций, и проведенных нами экспериментов, можно заключить, что предложенная композиция на основе суммарного экстракта подорожника большого и мяты перечной с препаратом тимогар можно использовать при заболеваниях печени, гипертонии, сахарном диабете, нарушениях мозгового кровообращения, почек, синдрома хронической усталости, сердечно-сосудистых заболеваниях. Она улучшает работу нервной системы, является стимулятором кровообращения, стабилизирует эмоциональное состояние, обладает бактерицидным эффектом, понижает холестерин, помогает для улучшения состояния организма при астме и кашле.

На основе проведенных исследований разработанную композицию можно рекомендовать для представления и получения разрешения для проведения клинических испытаний.

Теоретические результаты проведенного исследования можно рекомендовать для включения в учебные программы студентов высших учебных заведений биохимического и фармацевтического профилей.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
Статьи в рецензируемых научных журналах из перечня ВАК при
Президенте Республики Таджикистан:

[1-А]. Хусейнов У.М. Биологические и физико-химические свойства композиции на основе суммарных экстрактов подорожника большого (*Plantago major* L.), мяты перечной (*Mentha piperita* L.) и препарата тимогара [Текст] / У.М. Хусейнов, Г.М. Бобизода // Известия АН Республики Таджикистан. Отд. биол. и мед. наук. – 2017. – №4 (199). – С. 41-47. ISSN 0002-3477

[2-А]. Хусейнов У.М. Изучение биохимического состава экстрактов из растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов // Известия АН Республики Таджикистан. Отд. биол. и мед. наук. – 2017. – №1 (196). – С. 46-50. ISSN 0002-3477

[3-А]. Хусейнов, У.М. Иммунотропная активность композиции на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов, Г.М. Бобизода // Вестник АМН Республики Таджикистан. – 2018. – Том VIII, №4. – С. 511-517. ISSN 2221-7355

[4-А]. Хусейнов У.М., Бобизода Ф.М. Синтези дипептид изолейсил-триптофан бо усули азидӣ / У.М. Хусейнов, Ф.М. Бобизода // Паёми До-нишгоҳи омӯзгорӣ. – 2019. – № 2-3 (3-4). – С. 145–149.

[5-А]. Хусейнов У.М., Бобизода Ф.М. Омӯзиши фаъолияти захрнокии, фармоклоги таркиби шираҳои умумии барги зуф (*Plantago major* L.), пудинаи боғӣ (*Mentha piperita* L.) ва дипептид изолейтил триптофан / У.М. Хусейнов, Г.М. Бобизода // Паёми Донишгоҳи омӯзгорӣ. – 2019. – № 2-3 (3-4). – С. 149–152.

Тезисы в сборниках научных конференций:

[6-А]. Хусейнов, У.М. Фармакологическая активность композиции на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов, Г.М. Бобизода // Здравсохранение Таджикистана. Материалы 10-ой годичной республиканской научно-практической конференции на тему «Достижения медицинской отрасли Таджикистана за период независимости», посвященной 27-летию государственной независимости республики Таджикистан и году развития туризма и народных ремесел. Приложение №1 – 2018. – №4. – С. 86-88. ISSN 0514-2415

[7-А]. Хусейнов У.М. Характеристика органических компонентов суммарных экстрактов из растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов // Здравсохранение Таджикистана. Материалы 10-ой годичной республиканской

научно-практической конференции на тему «Достижения медицинской отрасли Таджикистана за период независимости», посвященной 27-летию государственной независимости республики Таджикистан и году развития туризма и народных ремесел. Приложение №1 – 2018. – №4. – С. 84-85. ISSN 0514-2415

[8-А]. Хусейнов, У.М. Исследование состава биологически активных веществ в экстрактах растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) [Текст] / У.М. Хусейнов, С.Г. Ашууров, Г.М. Бобизода // Наука и инновация.– 2018. – №1. – С.107-109. ISSN 2312-3648

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

БАВ	биологически активные вещества
БАД	биологически активные добавки
БХ	бумажная хроматография
БП	биоактивные пептиды
ВИД	видимый диапазон электромагнитного излучения
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
в/б	внутрибрюшинно
ГСО	государственный стандартный образец
ГФ	государственная фармакопея
ГХ	газовая хроматография
ГЖХ	газожидкостная хроматография
ДТП	детекторы теплопроводности
ДВ	дистиллированная вода
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИДС	иммунодефицитное состояние
ИО	иммунный ответ
ИР	иммунная реакция
КТНМ	композиция на основе препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого и мяты перечной
ЛС	лекарственное средство
ЛР	лекарственное растение
ПИД	пламенно-ионизационный детектор
ОТГ	острый токсический гепатит
РАП	растительные антимикробные пептиды
СД	сахарный диабет
СО	стандартный образец
СЭПБМПВ	суммарный экстракт подорожника большого и мяты перечной, водный

СЭПБМПС – суммарный экстракт подорожника большого и мяты перечной, спиртовый

ТД – терапевтическая доза

ТИД – термоионный детектор

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ – ультрафиолетовая

ФЭК – фотоэлектроколориметр

ЦАМФ – циклический аденозинмонофосфат

ЦГМФ – циклический гуанозинмонофосфат

ЭБ – эритроциты барана

ЭЗД – электронно-захватный детектор

АННОТАТСИЯ

диссертатсияи Хусейнов Умарҷон Мирҳочаевич дар мавзӯи «Қорқарди композитсия дар асоси дорувории масунафаъоли тимогар, растаниҳои шифобахши барги зуф (*Plantago major* L.) ва пудинаи боғӣ (*Mentha piperita* L.) барои дарёфти дараҷаи илмӣ номзади илмҳои биологӣ аз рӯйи ихтисоси 03.01.04 – биохимия.

Калидвожаҳо: аминокислотаҳо, пептидҳо, синтези пептидҳо, системаи масун, масунафаъолҳо, растаниҳои шифобахш, барги зуф, пудинаи боғӣ, моддаҳои фаъоли биологӣ, ҳосиятҳои фармакологӣ токсикологӣ.

Ҳадафи таҳқиқот: қорқарди композитсия дар асоси дорувории масунафаъоли тимогар, растаниҳои шифобахши барги зуф ва пудинаи боғӣ махсуб мегардад.

Мавод ва усулҳои таҳқиқот: Синтези дипептиди изолейсил-триптофан бо усули азидӣ иҷро гаштааст. Барои муайянсозии сифатӣ ва андозагириҳои микдории нишондиҳандаҳои сифатии дипептид, композитсия ва таркиботи он аз усулҳои спектрофотометрӣ (УВ, ИС), хроматографияи тунуқкабата, хроматографияи моеи кориаш баланд, масс-спектрометрӣ, титронии йодометрӣ ва формолӣ истифода карда шудааст. Барои муҳосиботи нишондодҳои захрокии шадиди (острая токсичность) композитсия усули пробит-таҳлили Литчфилд ва Уилкоксон истифода шудааст, ки асоси онро бақайдгирии фавти ҳайвонот вобаста ба меъёри воридшавии ташкил медиҳад. Диабети қанди таҷрибавӣ СД1 дар мушҳо тавассути ба шиками онҳо ворид намудани моногидрати аллоксан ба миён омадааст ва таъсири композитсия хангоми ба ин беморӣ гирифта шудани мушҳо аз рӯйи тағйирёбии нишондиҳандаҳои биохимиявӣ ва гематологии хуни онҳо арзёбӣ шудааст.

Ҳосияти масунафаъоли композитсия тавассути омӯзиши таъсири он ба микдори антителаҳо дар хуни мушҳо, ки бо эритроцитҳои гуёфанд (ЭГ) иммунизатсия шудаанд, ҳамчунин ба нишондодҳои иммунологӣ ва гематологии хуни мушҳо хангоми ба ҳолатҳои бемории норасоии масунии моделӣ гирифта шудани онҳо арзёбӣ гаштааст.

Андозагириҳои спектрометрӣ дар спектрометрӣ СФ-46 гузаронида шудаанд. Таҳқиқоти хроматографӣ дар пластинкаҳои хроматографияи «SilufolUV-254» («Chemapol», Чехия), колонкаи UltrasphereODS (4,4 x 50 мм) гузаронида шудаанд.

Натиҷаҳои ба даст омада ва навгониҳои онҳо: Бори нахуст шакли нави доруворӣ композитсия дар асоси намунаи масунафаъоли тимогар, барги зуф ва пудинаи боғӣ ба даст оварда шудааст, ки бо дарназардошти натиҷаҳои нишондиҳандаҳои сифатии таҳқиқоти гузаронидашуда ва таҳқиқи токлиникии ин дорувори қор қарда баромадани шартҳои техникӣ ва назорати сифати он ба мақсад мувофиқ аст.

Аз рӯйи натиҷаҳои таҳқиқот таркиби биохимиявӣ гуруҳҳои асосии моддаҳои фаъоли биологӣ барги зуф, пудинаи боғӣ ва композитсияи онҳо бо доруворӣ тимогар муайян карда шудааст. Дар композитсияи нишондиҳандаҳои микдории флавоноидҳо, аминокислотаҳо ва ҳосияти зиддиоксидантӣ он муқаррар гардидааст.

Тибқи таҳқиқоти қаблии фармакологӣ бори аввал ҳосияти захрокии шираи маҷмӯи барги зуфу пудинаи боғӣ ва композитсияи онҳо бо доруворӣ тимогар, ҳамчунин фаъолияти назаррасии ин композитсия дар бехтаргардонии нишондиҳандаҳои биохимиявӣ ва гематологии хуни мушҳои мубталои касалии қанди озмоишӣ муайян карда шудаанд.

Бори нахуст собит шудааст, ки композитсияи бадастовардашуда на танҳо қобилияти ислоҳи ноҷуриҳоро дар системаи масунӣ, балки дар системаи ҳунофарӣ низ дорад.

Тавсияҳои онд ба истифода: Натиҷаҳои бадастомада аз он шаҳодат медиҳанд, ки композитсия дар асоси доруворӣ тимогар, барги зуф ва пудинаи боғӣ маҷмӯи дорои ҳосияти назаррасии масунафаъоли мобошад ва дар ба эътидол овардани ҳолатҳои норасоии масунии беморҳои гуногун аз он метавон истифода бурд.

Соҳаи истифодабарӣ: Ҳайатҳои илмӣ-таҳқиқотие, ки масъалаҳои синтези пептидҳо, қорқарди дорувориҳоро дар асоси пептидҳо, растаниҳои шифобахш ба таҳқиқ гирифтаанд.

Натиҷаҳои назариявӣ таҳқиқоти мазкурро метавон дар барномаҳои таълимӣ донишҷӯёни бахшҳои биохимиявӣ ва фармсевтӣ макотиби олий ворид намуд.

Хангоми бомуваффақият анҷом додани таҳқиқотҳои клиникии композитсияи мазкур он дар шакли иловагӣ фаъоли биологӣ дар соҳаи тиб ояндаи хуберо хоҳад соҳиб шуд.

АННОТАЦИЯ

диссертации Хусейнова Умарджона Мирходжаевича «Разработка композиции на основе иммуномодулирующего препарата тимогар, лекарственных растений подорожника большого (*Plantago major* L.) и мяты перечной (*Mentha piperita* L.) на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

Ключевые слова: аминокислоты, пептиды, синтез пептидов, иммунная система, иммуномодуляторы, лекарственные растения, подорожник большой, мята перечная, биологически активные вещества, фармако-токсикологические свойства.

Цель исследования: является разработка композиции на основе препарата тимогар, лекарственных трав подорожника большого и мяты перечной.

Материалы и методы исследования: При синтезе дипептида изолейцил-триптофан использован азидный метод синтеза пептидов. Для качественных определений и количественных измерений показателей качества дипептида, композиции применены спектрофотометрические методы (УФ, ИК), методы тонкослойной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии, методы йодометрического и формольного титрования. Иммуотропная активность композиции была оценена изучением ее влияния на число антител в периферической крови мышей, иммунизированных эритроцитами барана (ЭБ), а также ее влиянием на иммунологические и гематологические показатели периферической крови мышей при модельных иммунодефицитных состояниях.

Спектрометрические измерения проводились на спектрометре СФ-46. Хроматографические исследования на хроматографических пластинках «Silufol UV-254» («Chemapol», Чехия), колонке UltraSphere ODS (4,4 x 50 мм).

Полученные результаты и их новизна: Впервые в лабораторных условиях получена новая лекарственная форма композиции на основе иммуномодулирующего препарата тимогар, подорожника большого и мяты перечной, которой по результатам проведенного исследования технологических характеристик, показателей качества и доклиническим исследованиям целесообразно разработать технические условия и контроль качества.

В результате проведенных исследований установлен биохимический состав основных групп биологически активных веществ (БАВ) подорожника большого и мяты перечной, композиции на их основе и препаратом тимогар. Изучено в композиции содержание флавоноидов, витамина С и совокупность аминокислотного состава.

Предварительными фармакологическими исследованиями композиции впервые определены токсичность суммарного экстракта мяты перечной и подорожника большого, а также его композиции с препаратом тимогар, способность композиции к улучшению биохимических и гематологических показателей крови мышей при экспериментальном сахарном диабете.

Впервые установлено, что полученная композиция способна корректировать расстройства не только в иммунной системе, но и в системе кроветворения.

Рекомендации по использованию: Полученные результаты свидетельствуют, что композиция на основе препарата тимогар, подорожника большого и мяты перечной является значительно активным иммуномодулирующим средством и может использоваться для коррекции иммунодефицитных состояний при различных заболеваниях.

Область применения: Научно-исследовательские коллективы, исследующие вопросы синтеза пептидов, разработки лекарственных средств на основе пептидов, лекарственных растений.

Теоретические результаты проведенного исследования можно рекомендовать для включения в учебные программы студентов высших учебных заведений биохимического и фармацевтического профилей.

При проведении успешных клинических исследований композиции ее ожидает перспектива применения в медицинской практике в виде биологически активных добавок (БАД).

ANNOTATION

dissertation of Umarjon Mirkhojaevich Huseynov titled “Composition development based on the immunomodulating drug timogar, *Plantago major* L. and *Mentha piperita* L.” for the degree of candidate of biological sciences in specialty 03.01.04 - biochemistry.

Key words: amino acids, peptides, peptide synthesis, immune system, immunomodulators, medicinal plants, *Plantago major* L., *Mentha piperita* L., biologically active substances, pharmaco-toxicological properties.

Purpose of the study: is the development of a composition based on the drug timogar, medicinal herbs *Plantago major* L. and *Mentha piperita* L.

Materials and research methods: The azide method of peptide synthesis was used in the synthesis of isoleucyl-tryptophan dipeptide. Spectrophotometric methods (UV, IR), thin layer chromatography, high-performance liquid chromatography, mass spectrometry, methods of iodometric and formal titration were used for qualitative determinations and quantitative measurements of the quality indicators of a dipeptide. To calculate the parameters of acute toxicity of the composition, the method of probit was used - analysis according to Litchfield and Wilcoxon, which is based on taking into account the mortality of animals from the administered doses of the studied preparation. Experimental diabetes mellitus DM1 was induced in mice by intraperitoneal administration of alloxan monohydrate and the evaluation of the therapeutic effect of the composition in this disease was assessed by changes in the biochemical and hematological parameters of the blood of animals. The immunotropic activity of the composition was evaluated by studying its effect on the number of antibodies in the peripheral blood of mice immunized with sheep erythrocytes (EB), as well as its effect on the immunological and hematological parameters of the peripheral blood of mice under model immunodeficiency states.

Spectrometric measurements were performed on an SF-46 spectrometer. Chromatographic studies are performed on chromatographic plates SilufolUV-254 (Chemapol, Czech Republic), column UltrasphereODS (4.4 x 50 mm).

The results obtained and their novelty: For the first time in the laboratory, a new dosage form of the composition was obtained on the basis of the immunomodulating drug timogar, *Plantago major* L. and *Mentha piperita* L., which, based on the results of the study of technological characteristics, quality indicators and preclinical studies, it is advisable to develop technical conditions and quality control.

As a result of the conducted research, the biochemical composition of the main groups of biologically active substances (BAS) of the *Plantago major* L. and *Mentha piperita* L., the composition based on them and the preparation timogar has been established. The content of flavonoids, vitamin C and a combination of amino acid composition has been studied in the composition.

The preliminary pharmacological studies of the composition for the first time determined the toxicity of the total peppermint extract and large plantain, as well as its composition with timogar, the ability of the composition to improve the biochemical and hematological parameters of the blood of mice with experimental diabetes mellitus.

For the first time it was established that the resulting composition is capable of correcting disorders not only in the immune system, but also in the hematopoietic system.

Recommendations for use: The results obtained indicate that the composition based on the drug timogar, *Plantago major* L. and *Mentha piperita* L. is a significantly active immunomodulatory agent and can be used to correct immunodeficiency states in various diseases.

Application area: Research teams exploring the issues of peptide synthesis, drug development based on peptides, medicinal plants. Theoretical results of the study can be recommended for inclusion in the curriculum of students of higher educational institutions of biochemical and pharmaceutical profiles. When conducting successful clinical studies of composition, it is expected to be applied in medical practice.