

На правах рукописи

**Музафарова**  
**Матлюба Хакимовна**

**Фармакология антидиабетического сбора «Чорбарг»  
(экспериментальное исследование)**

**14.03.06.- фармакология, клиническая фармакология**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**



**Душанбе 2012**

Работа выполнена на кафедре фармакологии и в Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибни Сино.

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук,  
профессор  
**Ишанкулова Бустон Астановна**

**Официальные оппоненты:**

Главный научный сотрудник  
доктор медицинских наук  
**Саидов Алижан Аброрович**  
Институт Химии  
им. В.И. Никитина АН РТ,

Доцент кафедры эндокринологии  
кандидат медицинских наук  
**Джураева Саодат Дададжановна**  
ТГМУ им. Абуали ибни Сино,

**Ведущая организация:**

Государственный научно-исследовательский институт питания  
Министерства энергетики и промышленности Республики Таджикистан

Защита диссертации состоится « 22 » мая 2012г. в 15.00 часов  
на заседании диссертационного совета КМ 04700301 при Институте Химии  
им. В.И. Никитина АН РТ по адресу: 734063, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2.  
Сайт института: [www.chemistry.tj](http://www.chemistry.tj)  
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института Химии имени  
В. И. Никитина АН Республики Таджикистан

Автореферат разослан « 21 » апреля 2012 г.

**Ученый секретарь**  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук



**Рахимов И.Ф.**

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность проблемы.**

Во всем мире среди эндокринных заболеваний, сахарный диабет имеет широкое распространение, особенно в развитых странах. По данным ВОЗ сахарным диабетом страдают более 2/4 населения промышленно развитых стран, и более того, данное заболевание имеет тенденцию к росту (И. И. Дедов и соавт. 2004). Несмотря на принятие в большинстве стран мира Национальных Программ по борьбе с сахарным диабетом, его распространенность продолжает увеличиваться не только среди населения старше 40 лет, но и среди подростков и лиц детского возраста (Z.T. Bloomgarder, 2004).

Распространенность заболевания в Таджикистане среди взрослого населения составляет 0,1-0,69%, а с нарушенной толерантностью к глюкозе 0,23-2,35% (Ш.С. Анварова и соавт. 2008).

В лечении сахарного диабета помимо гормональных и синтетических препаратов немаловажное место занимают растительные средства, которые эмпирически использовались с древнейших времен. Преимущество лекарственных растений в лечении сахарного диабета перед синтетическими препаратами заключается в том, что они не только более физиологично вмешиваются в обмен углеводов и липидов, но и, что очень важно, являются менее токсичными и экономически более выгодными (Нуралиев Ю.Н., 1999, Ишанкулова Б.А., 2006).

Сахароснижающее действие лекарственных растений связано с наличием в их составе особых веществ – гликокининов, инсулиноподобных веществ, флавоноидов, полифенолов и эфирных масел (Д.А. Азонов 1995; Б. А. Ишанкулова 2002). В связи с этим, поиск наиболее эффективных эфиромасличных и полифенолсодержащих растений и разработка на их основе эффективных антидиабетических сборов являются актуальной проблемой современной фармакологии и диабетологии.

За последние годы учеными Таджикистана изучены гипогликемические свойства некоторых растений, однако на их основе не разработаны и не внедрены эффективные антидиабетические сборы для лечения сахарного диабета.

Опираясь на опыт наших исследователей, а также древнетаджикских и народных врачей, среди лекарственных растений флоры Таджикистана нами были выбраны следующие растения, обладающие сахароснижающим действием – листья шелковицы (тутовник), лавровые листья, листья ореха грецкого, листья винограда культурного и создан антидиабетический сбор с

условным названием «Чорбарг». Настой из сбора готовили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи СССР XI (1990).

Наличие листьев ореха грецкого в составе сбора обеспечивает ему также противомикробный и ранозаживляющий эффекты, что также является полезным для профилактики диабетических осложнений.

**Целью настоящего исследования является** фармакологическое изучение антидиабетических свойств сбора «Чорбарг».

#### **Задачи исследования:**

1. Изучить гипогликемическое действие сбора «Чорбарг» при экстрапанкреатической гипергликемии (тест толерантности к глюкозе), адреналиновой гипергликемии, а также на модели гиперхолестериновой диеты у белых крыс.
2. Изучить гиполипидемическое и гипокоагулирующее действие сбора «Чорбарг» на модели гиперхолестериновой диеты.
3. Изучить противовоспалительное и иммуностимулирующие действие сбора «Чорбарг».
4. Изучить острую и хроническую токсичность сбора «Чорбарг».

**Научная новизна:** Впервые экспериментально доказано антидиабетическое действие настоя сбора «Чорбарг» с помощью теста толерантности к глюкозе, адреналиновой гипергликемии и гиперхолестериновой диете, а также установлено противовоспалительное и иммуностимулирующее действие.

Впервые на модели гиперхолестериновой диеты изучено гиполипидемическое и гипокоагулирующее действие сбора «Чорбарг»

Впервые дано экспериментальное обоснование для клинического испытания сбора «Чорбарг» у больных сахарным диабетом.

По антидиабетическим свойствам настой сбора «Чорбарг» несколько превосходит действие известного антидиабетического сбора «Арфазетин».

#### **Практическая значимость**

Установлено, что сбор антидиабетический «Чорбарг» обладает гипогликемическим, гиполипидемическим, гипокоагулирующим эффектом.

Противовоспалительное, иммуностимулирующее и гипокоагулирующее свойства сбора обеспечивают возможность предотвращения кожно-ногичковых и других сосудистых осложнений при сахарном диабете.

Эти данные дают обоснование рекомендовать сбор «Чорбарг» для профилактики и лечения сахарного диабета II типа, а также при нарушении жирового обмена.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Сбор «Чорбарг» оказывает гипогликемическое действие при тесте толерантности к глюкозе, моделях адреналиновой гипергликемии и гиперхолестериновой диеты у белых крыс.
2. Сбор «Чорбарг» оказывает выраженное гиполипидемическое действие при гиперхолестериновой диете у белых крыс - снижает повышенный уровень атерогенных липидов, и повышает уровень антиатерогенных липопротеидов, нормализует свёртывающую систему. Обладает иммунокорректирующим и противовоспалительным действием.
3. Безвреден при длительном 5-ти месячном применении.

### **Внедрение результатов исследования:**

Результаты доклинических исследований сбора «Чорбарг» подготовлены и представлены в Фармакологический Комитет Министерства здравоохранения Республики Таджикистан для получения разрешения на его клиническое испытание.

Результаты исследований используются в учебном процессе на кафедрах фармакологии и эндокринологии ТГМУ им. Абуали ибни Сино.

### **Апробация работы:**

Основные результаты диссертации доложены на 55-ой годичной научно - практической конференции Таджикского госмедуниверситета им. Абуали ибни Сино (Душанбе, 2007 г.), на Российском Конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2008, 2011г. ) на межкафедральной проблемной комиссии по теоретическим медицинским дисциплинам Таджикского госмедуниверситета им. Абуали ибни Сино (Душанбе, 2012г.).

### **Публикации:**

По материалам диссертационной работы опубликовано 6 научных работ.

### **Объем и структура работы:**

Диссертация изложена на 89 страницах компьютерного текста (шрифт – 14, интервал – 1,5), состоит из введения, 6 глав результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы, приложений. Диссертация иллюстрирована 18 таблицами и 8 диаграммами.. Список литературы включает 141 источников, в т. ч. стран СНГ- 102 и дальнего зарубежья - 39

## Содержание работы.

### Материалы и методы исследования.

Эксперименты были проведены на 240 белых крысах обоего пола весом 150,0-400,0 гр. и 60 белых мышах весом 19,6-25,0 гр. В зависимости от цели и задач настоящего исследования, характера и продолжительности эксперимента было поставлено 39 серий опытов, проведено 86 биохимических, гематологических и иммунологических анализов.

Все экспериментальные животные содержались в контролируемых условиях окружающей среды: влажность, 12 – часовая смена освещения (день/ночь). Работа с лабораторными животными осуществлялась в соответствии с протоколами исследований и согласовывалась с требованиями по гуманному обращению с животными (IACUC, 1994).

Сбор образцов растений производились: листья грецкого ореха (июнь-июль), листья лавра благородного (ноябрь), листья шелковицы (июнь) и листья винограда культурного (в конце мая) в 2006-2008 годы в Турсунзадевском регионе и Гиссарской долине. Сбор «Чорбарг», приготовленный в форме настоя готовился в соотношении 1:10 в соответствии со всеми требованиями Государственной Фармакопеи СССР (ГФ.СССР, XI, 1990). В качестве контрольной дополнительной группы для сравнения эффективности сбора «Чорбарг» был использован настой из антидиабетического сбора «Арфазетин» (С. Я. Соколов и соавт., 2007).

После предварительных поисковых экспериментальных опытов, растения входящие в состав сбора были взяты в следующих соотношениях: листья лавра -20%, листья грецкого ореха - 20%, листья шелковицы - 30% и листья винограда культурного – 30%.

Нами проведено всестороннее фармакологическое изучение сбора «Чорбарг», основанное на принципах доказательной медицины.

С целью выяснения гипогликемического эффекта сбора «Чорбарг» нами были выбраны следующие модели: Экстрапанкреатическая гипергликемия (тест толерантности к глюкозе), вызывалась однократным внутривенным (в/в) введением 20% раствора глюкозы из расчета 2 г/кг массы животных. Опыты проводились на 40 белых крысах, весом 200,0-250,0 гр., предварительно голодавших в течение 15-20 часов. Уровень сахара в сыворотке крови определяли ортотолуидиновым методом до и через 15 и 45

мин после введения глюкозы (В. В. Полторац, В. И. Покрышкин, 1984). Достоверность данной модели заключается в том, что по ней можно судить не только об эффективности препарата при экстрапанкреальной гипергликемии, но и о действия растений в отношении толерантности организма к глюкозе (Шаропова М.У., Зубайдова Т.,2007)

Адреналиновая гипергликемия, вызвалась путем в/б введения 0,1% р-ра адреналина гидрохлорида из расчета 1мг/ кг массы (В.В.Гацура, 1977) . Эксперименты проводили на 40 белых крысах обоего пола, голодавших в течении 12-15 часов до инъекции адреналина. Испытуемые дозы сбора «Чорбарг», приготовленного в форме настоя и сбор «Арфазетина» вводили внутривентриально за 30 мин. до инъекции адреналина гидрохлорида. Уровень сахара в крови опытных (леченных) и контрольных (нелеченных) крыс определяли до, через 15 мин. и 45мин. от начало инъекции адреналина.

В наших экспериментах действие настоя сбора «Чорбарг» уровень сахара в крови и на обмен липидов мы изучали на модели гиперхолестериновой диеты общепринятом методом Макарова на 30 белых беспородных крысах обоего пола весом 320-380 гр. Животных в течении 30 дней кормили диетой, содержащую холестерин -2,5%, метилурацил – 0,12% , растительное масло, предварительно прогретое при высокой температуре, а затем охлажденное и животный жир из расчета 1:4 . Затем после 14 часов голодания изучали липиды сыворотки крови.

Также при гиперхолестериновой диете изучали состояние свертывающей системы крови на 38 белых беспородных крысах весом 290,0-300,0 гр., во всех сериях изучали кровь с помощью прибора «Тромбоэластограф-2» 1993 года выпуска – обновленный (А. Н. Филатов, М. А. Котовщикова, 1993). Кровь для исследования в объеме 0,45 мл брали рассечением нижней десны крыс. На тромбоэластограммах изучали время реакции (r) в мин, соответствующее невидимым фазам (I – II) свертывания крови и тромбопластинотромбинообразования; K–показатель, выражающий начало образования сгустка фибрина (начало III фазы); Ма – максимальная амплитуда, характеризующая максимальную вязкость крови.

Противовоспалительное свойство сбора «Чорбарг» было изучено на динамику экссудативной фазы воспалительного процесса на моделях гистаминового и серотонинового отека лапок у белых крыс. Опыты проводили на 60 белых крысах обоего пола, весом 220,0-260,0 гр. Воспаление вызывали введением под апоневроз задней лапки крыс по 0,1 мл 0,1% раствора гистамина и по 0,1 мл 0,01% раствора серотинина. Критерием оценки противовоспалительного действия исследуемых фитопрепаратов

служила величина объема лапок, измеряемая онкометрическим методом до и через 30 мин, 1,5, 3 и 6 часов после введения гистамина и серотонина.

Иммуностимулирующее действие сбора «Чорбарг» было изучено на модели гистаминного отека лапок у белых крыс. Опыты проводили на 40 белых крысах обоего пола, весом 230,0 – 260,0гр. Фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови определяли при помощи латекс – теста по общепринятому методу. Одновременно подсчитывалось число частиц латекса в цитоплазме одного нейтрофила. Активность комплемента определяли по общепринятой методике (Iager, 1990).

Нами также были изучены острая и хроническая токсичности настоя сбора «Чорбарг, (1:10). При острой токсичности показатели ЛД – 50 и ЛД – 100, были изучены на 60 белых мышах обоего пола весом 19,0-22,0 гр. и 80 беспородных белых крысах обоего пола весом 190,0-270,0 гр. результаты опытов были обработаны по формуле Г. И. Першина (1959).

Хроническая токсичность настой «Чорбарг» (1:10), была изучена на 40 беспородных белых крысах обоего пола весом 250,0-320,0 гр. настой «Чорбарг» вводился в дозах 2 и 5 мл/кг массы ежедневно однократно в течение 5 месяцев. Контрольным крысам вводили дистиллированную воду из расчета 5 мл/кг массы. Отмечались число павших животных, а также динамика веса крыс через 7, 15, 60, 90 дней. В конце эксперимента у опытных и контрольных животных через 15-20 часов после введения очередной дозы изучаемых веществ, брали кровь (путем рассечения нижней десны) для изучения основных показателей периферической крови – эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина и СОЭ. Эритроциты и лейкоциты определяли пробирочным методом (В. Г. Колб, В. С. Камышников, 1976). Концентрацию гемоглобина крови определяли при помощи гемометра Сали, СОЭ определяли микрометодом Панченкова (М. Ф. Румянцева и соавт., 1986). Принцип метода заключается в том, что при стабилизации крови эритроциты оседают с различной скоростью в зависимости от изменения ее физико-химических и физиологических свойств крови. Скорость оседания эритроцитов выражали в мм/час.

Свертывающую систему крови в условиях хронического эксперимента изучали на 30 белых беспородных крысах весом 290,0-300,0 гр., во всех сериях изучали кровь с помощью прибора «Тромбоэластограф-2» 1993 года выпуска – обновленный (А. Н. Филатов, М. А. Котовщикова, 1993). Кровь для исследования в объеме 0,45 мл брали рассечением нижней десны крыс. На тромбоэластограммах изучали время реакции (r) в мин, соответствующее невидимым фазам (I – II) свертывание крови и тромбопластинотромбинообразования; K–показатель, выражающей начало

образования сгустка фибрина (начало III фазы);  $M_a$  – максимальная амплитуда, характеризующая максимальную вязкость крови.

Влияние настоек «Чорбарг» на функцию печени судили по содержанию общего белка, триглицеридов, фосфолипидов, билирубина, а также по активности таких ферментов, как аспарат-аминотрансфераза (АСТ), аланин – аминотрансфераза (АЛТ), определение которых проводили в конце 5 месяца от начала ежедневного внутрижелудочного введения препарата.

Местное действие настоек «Чорбарг» (1:10) изучали по общепринятой методике (В.С. Ронин, 1989). Ежедневно в течение трех месяцев на кожные и слизистые покровы (конъюнктиву глаз и слизистые носа) с помощью пипетки наносили, однократно и многократно 2-4 капли свежеприготовленного теплого настоек «Чорбарг» (на предварительно очищенные от шерсти участки кожи). Результаты экспериментов оценивали визуально по характеру гиперемии кожных и слизистых покровов, проявлению отека, зуда, появления трещин, повышению секреции желез и по результатам местной температур.

#### **Методы статистической обработки :**

Статистическую обработку полученных экспериментальных результатов проводили разностным методом (И. А. Ойвин, 1960). Для этого в каждой серии опытов, в которой данные имели цифровое выражение, подсчитывали среднее арифметическое ( $M$ ), квадратическое отклонение ( $\delta \pm$ ), срединную ошибку ( $\pm m$ ). По срединным ошибкам контрольной и опытной серий подсчитывали коэффициент "свободы" ( $t$ ), а по нему и суммарному числу опыта в обеих сравниваемых сериях из соответствующих таблиц определяли величину, характеризующую достоверность различий средних арифметических ( $P$ ). Значение достоверности « $P$ » определяли после вычисления критерия значимости коэффициента Стьюдента (Е. Я. Белицкая, 1972).

Эти различия средних арифметических признавались достоверными, если  $P$  было  $< 0,05$ . В тексте после указания средних величин результатов той или иной группы опытов ( $M$ ) везде указаны значения срединной ошибки ( $\pm m$ ).

#### **Обсуждение полученных результатов.**

Для проведения теста толерантности к глюкозе, животные были разделены на 3 серии: 1-контрольные крысы, получавшие за 40 мин. до внутрибрюшинного введения глюкозы дистиллированную воду из расчета 5 мл/кг массы; 2-опытные животные, получавшие настой сбора «Чорбарг» по 5

мл/кг массы по такой же схеме; 3-животные, получавшие настой сбора «арфазетин» по 5 мл/кг массы по такой же схеме .

Забор крови, для определения уровня гликемии брали рассечением нижней десны крыс за 30 минут до внутрижелудочного введения испытуемых доз препаратов и инъекции глюкозы (исходные), а также через 15 и 45 минут после инъекции глюкозы.

Содержание глюкозы в крови контрольных крыс через 15 минут после введения 20% глюкозы повышалось и составило  $8,0 \pm 0,2$  ммоль/л по сравнению с исходным принятым за 100%. Через 45 минут концентрация сахара в крови снижалась лишь до  $6,8 \pm 0,1$  ммоль/л. У животных, получавших настой сбора «Чорбарг» концентрация сахара в крови через 15 минут достоверно снижалась и составила  $6,7 \pm 0,4$  ммоль/л, через 45 минут уровень сахара приближался к исходным  $5,2 \pm 0,2$  ммоль/л. В то же время у животных, получавших настой «арфазетин», концентрация сахара в крови через 15 минут составила  $6,9 \pm 0,3$  ммоль/л, а через 45 минут снизилась до  $5,4 \pm 0,3$  ммоль/л.

Таким образом, настой сбора «Чорбарг» оказывает заметное гипогликемическое действие при тесте толерантности к глюкозе и может быть использован при начальных формах сахарного диабета

Для изучения гипогликемического действия сбора «Чорбарг» при адреналиновой гипергликемии также, животные были разделены на 4 группы: 1- интактные, которым в/ж ввели из расчета 5мл/кг массы дистиллированную воду; 2 - контрольные, в/б вводили адреналина гидрохорида, а за 30 минут до него дистиллированную воду в дозе 5мл/кг массы; 3- опытные животные, получившие до инъекции адреналина в/ж настой сбора «Чорбарг» (1:10) в дозе 5 мл/кг по такой же схеме; 4- опытные животные, получившие по такой же схеме 5 мл /кг настой сбора « Арфазетин»

Исследование уровня сахара в крови экспериментальных животных выявило следующую динамику (табл.1).

В контрольной группе через 15 мин. после инъекции адреналина гидрохлорида содержание сахара в крови резко увеличилось, составляя  $7,4 \pm 0,8$  ммоль/л (исходный показатель  $4,4 \pm 0,02$  ммоль/л), т.е.повысилось на 168,4%. Через 45 мин. уровень сахара снизился достигая  $6,6 \pm 0,5$  ммоль/л (150%). В опытной серии, где животным был введен настой сбора «Чорбарг» через 15 мин. уровень сахара повышался незначительно -  $5,5 \pm 0,5$  ммоль/л по сравнению с контрольными животными. На 45 минуте экспериментального исследования в сыворотке крови крыс, получивших изучаемый объект содержание сахара снижалось, приближаясь к исходным показателям,

составляя  $5,1 \pm 0,2$  ммоль/л. Настой сбора «Арфазетин», введенный в/ж за 30 мин. до инъекции адреналина гидрохлорида также уменьшал его гипергликемическое действие - через 15 мин. содержание сахара в сыворотке крови составляло  $6,2 \pm 0,3$  ммоль/л, а через 45 мин. постепенно снизилось до  $5,9 \pm 0,1$  ммоль/л (144% и 137% соответственно). Однако эти показатели уступали настою сбора «Чорбарг».

При гиперхолестериновой диете у контрольных крыс (нелеченные) концентрация сахара в крови составляла  $12,5 \pm 0,02$  ммоль/л, а концентрация сахара в крови у крыс получавшие настой сбора «Чорбарг» составила  $6,9 \pm 0,01$  ммоль/л, настой сбора «Арфазетин» понизил уровень сахара в крови до  $7,2 \pm 0,4$  ммоль/л.

**Таблица 1**

**Гипогликемическое действие сбора «Чорбарг» при адреналиновой гипергликемии у белых крыс  $M \pm m$**   
**P**

№	Серия опытов и дозы на кг массы	Концентрация сахара в крови в ммоль/л		
		Исходный показатель, принятый (100%) за	15 мин.	45 мин.
1.	Интактные, дистиллированная вода 5мл	$4,3 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,5$	$4,3 \pm 0,3$
2.	Контрольная, адреналина гидрохлорид + дистиллированная вода 5мл (n=10)	$4,4 \pm 0,2$	$\frac{7,4 \pm 0,8}{P < 0,001}$	$\frac{6,6 \pm 0,6}{P < 0,001}$
3.	Опытная, сбор «Чорбарг» в\ж, 5мл (n=10)	$4,4 \pm 0,3$	$\frac{5,5 \pm 0,5}{P < 0,05}$	$\frac{5,1 \pm 0,2}{P < 0,001}$
4.	опытная сбор «арфазетин» в\ж, 5мл (n=10)	$4,3 \pm 0,1$	$\frac{6,2 \pm 0,3}{P < 0,05}$	$\frac{5,9 \pm 0,1}{P < 0,001}$

**Примечание: P-значение различных показателей по отношению к исходным показателям**

Таблица 2

Влияния фитосбора «Чорбарг» на уровень сахара в сыворотке крови у белых крыс при экспериментальной гиперхолестериновой диете в течение 30 дней. Среднее из 9 - 10 крыс в каждой серии.

Показатели	Серия опытов и дозы в мл/кг массы				P
	Интакты ые дистил. вода 5 мл/кг	Контрольный нелеченные+д истил. вода 5мл/кг n=10	Настой фитосбора «Чорбарг» 5мл/кг n=10	Настой фитосбора «Арфазетин» 5мл/кг n=10	
Сахар крови, ммоль/л	4,5±0,2	12,5±0,02	6,9±0,01	7,2±0,4	<0,001

Примечание: P- достоверность различий показателей по сравнению с таковыми в контрольной группе.

При сахарном диабете 2 типа, помимо контроля над углеводным обменом у больных, необходимо осуществлять мониторинг и липидного обмена.

У контрольных белых крыс (нелеченные) содержание общего холестерина повысилось до 2,5 ммоль/л, триглицеридов до 0,98 ммоль /л, ЛПНП повысилась до 10,5±0,06 мг% и ЛПОНП повысились до 12,6±0,02 ммоль/л. Что касается ЛПВП, то она незначительно падает, и в среднем равняется 20,8, ± 0,07 ммоль/л. У крыс, получавших настой сбора «Чорбарг» достоверно уменьшалось содержание холестерина - 1,20 ± 0,08 ммоль/л и триглицеридов - 0,71 ± 0,06 ммоль/л. Одновременно с этим снижалось содержание ЛПНП до 9,5±0,05 мг% и ЛПОНП до 8,9±0,01 ммоль/л, а содержание ЛПВП повысилось до 46,5±0,04 ммоль/л. У крыс, леченных настоем сбора «Арфазетин» содержание холестерина понизилось до 1,20±0,08 ммоль/л, триглицеридов до 0,82±0,05 ммоль /л, ЛПНП до 9,9±0,06 мг% и ЛПОНП до 9,2±0,02 ммоль/л, содержание ЛПВП повысилось до 39,4±0,05 ммоль /л.

Таким образом, полученные результаты показателей липидного обмена свидетельствуют об эффективном гиполипидемическом действии сбора «Чорбарг»

У крыс получавших настой сбора «Арфазетин» данные показатели уступали показателям настоя сбора «Чорбарг».

Таблица 3

Влияния фитосбора «Чорбарг» на обмен липидов, в сыворотке крови у белых крыс при экспериментальной гиперхолестериновой диете в течение 30 дней. Среднее из 9 - 10 крыс в каждой серии.

Показатели	Серия опытов и дозы в мл/кг массы				Р
	Интактные дистил. вода 5 мл/кг	Контрольные нелеченные +дистил. вода 5мл/кг n=10	Настой фитосбора «Чорбарг» 5мл/кг n=10	Настой фитосбора «Арфазетин» 5мл/кг n=10	
Общий холестерин, ммоль/л	2,50±0,05	2,50±0,08	1,20±0,08	1,68±0,05	<0,001
Триглицериды, ммоль/л	0,63±0,04	0,98±0,07	0,71±0,06	0,82±0,08	<0,01
ЛПНП-β-липопротеиды мг%	8,9±0,03	10,5±0,06	9,5±0,05	9,9±0,06	<0,001
ЛПВП -λ-липопротеиды, ммоль/л	50,8±0,05	20,8±0,07	46,5±0,04	39,4±0,05	<0,001
ЛПОНП (пре. β) ммоль/л	6,6±0,02	12,6±0,02	8,9±0,01	9,2±0,02	<0,001

**П р и м е ч а н и е :** Р- достоверность различий показателей по сравнению с таковыми в контрольной группе.

Одним из грозных осложнений сахарного диабета, которое довольно часто становится причиной смерти больных является тромбоэмболия. До настоящего времени система коагуляции крови больных сахарным диабетом недостаточно изучена. Показано, что у больных сахарным диабетом имеет место повышение активности компонентов свертывающей и угнетение противосвертывающей системы крови (Н.В. Аминева, 1979). При этом повышается степень тромбообразования и толерантности плазмы к гепарину, тромбопластическая и протромбиновая активность крови. Наряду с этим при сахарном диабете увеличивается активность VIII и XIII факторов, повышается

содержание антитромбина III, угнетается гепариновая активность крови. Значительное снижение фибринолитической активности крови коррелирует со степенью нарастания уровня липидов, повышения концентрации сахара и изменением протеинограммы.

В связи тем что при гиперхолестериновой диете наблюдается гипергликемия, которое в литературе описывается как инсулинорезистентность, нами изучалось картина свертывающей системы крови на этой экспериментальной модели.

При изучении тромбоэластограммы крови у интактных крыс установлено, что время тромбопластино-тромбинообразования (ч) составило  $2,9 \pm 0,08$  мин., образования сгустка фибрина (К) –  $1,8 \pm 0,02$  мин., а максимальная вязкость крови (Ма) –  $6,8 \pm 0,05$  мин. При гиперхолестериновой диете у крыс происходит резкое нарушение всех фаз образования кровяного сгустка и максимальной вязкости. Время тромбопластино-тромбинообразования, соответствующее невидимым фазам (I и II) свертывания крови резко сокращается и составляет  $1,4 \pm 0,05$  мин. Одновременно с этим, значительно укорачивается время образования сгустка фибрина -  $0,8 \pm 0,02$  мин. и повышается максимальная вязкость крови -  $8,6 \pm 0,05$  мин.

Таким образом, при гиперхолестериновой диете у крыс наблюдается гиперкоагуляция, выражающаяся в укорочении времени тромбообразования и образования сгустка фибрина, а также повышения вязкости крови.

У крыс с гиперхолестериновой диетой леченных настоем сбора «Чорбарг» в дозе 5 мл/кг массы, заметно происходит восстановление свертывающей системы. Достоверно ( $P < 0,01$ ) удлиняется время тромбообразования, которое равно  $3,6 \pm 0,05$  мин. против  $1,4 \pm 0,05$  мин. у контрольной серии крыс. Одновременно, удлиняется время образования сгустка -  $1,9 \pm 0,04$  мин. против  $0,8 \pm 0,02$  мин. у крыс с гиперхолестериновой диетой достоверно снижается  $4,2 \pm 0,02$  ( $P < 0,01$ ) максимальная вязкость крови.

Таким образом, все изучаемые нами лекарственные растения при повышенной свертывающей системе крови, развивающейся при гиперхолестериновой диете у крыс оказывают гипокоагулирующее действие.

Проблеме этиологии и патогенеза, а также методам лекарственной терапии воспалительного процесса посвящены многочисленные работы как отечественных, так и зарубежных исследователей (Д. А. Альперн, 1959; И. А. Ойвин, 1958, 1973; Ю. Н. Нуралиев, 1989; Б. А. Ишанкулова, 1999; Т. М. Зубайдова, 1999; У. П. Юлдашева, 2003; Movat, 1971; Martin 1973).

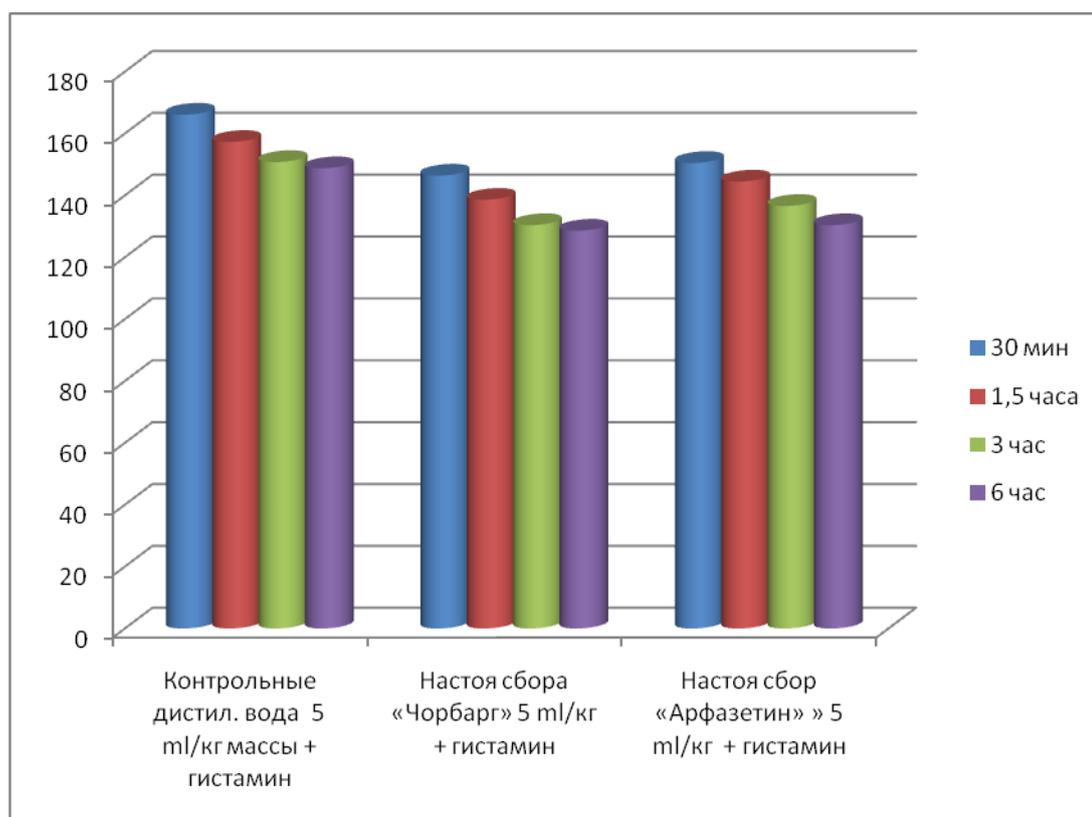
В развитии воспалительного процесса большую роль играют медиаторы воспаления - гистамин, серотонин, брадикинин и др., вазоактивные пептиды, протеолитические ферменты, гиалуронидаза и др. (А. М. Чернух, 1979) Во время освобождения медиаторов, повышается проницаемость кровеносных капилляров (Я. Н. Росин, 1977; Л. Г. Стамова, 1998; Ruan et all, 1977).

Ряд эфиромасличные растения обладают мембраностабилизирующим и весьма активным противовоспалительным действиями (Ю. Н. Нуралиев, 1989; А. Азонов, 1994; Б. А. Ишанкулова, 2008).

Для изучения действия настоя сбора «Чорбарг» на течение гистаминового и серотонинового отека лапок крыс, животные были распределены на 3 группы: 1- контрольные, получившие до инъекции гистамина и серотонина, дистиллированную воду; 2 опытные животные, которым за 1 час до инъекции гистамина и серотонина в/ж вводили настой сбора «Чорбарг» дозе 5 мл/кг массы; 3-животные, которые по той же схеме получали настой «арфазетина».

Величину лапок измеряли плетизмометрическим методом, непосредственно перед инъекцией, а также через 30 мин; 1,5; 3; 6 часов после введения гистамина и серотонина. Предварительное (за 1 час) введение настоя сбора «Чорбарг» крысам предотвращало гистаминовый и серотониновый отеки задних лапок во все сроки исследования. Это показало статистически достоверное уменьшение объема воспалительных лапок.

**Рис.1 Влияние настоя сбора «Чорбарг» (1:10) на динамику течения гистаминного отека лапок у белых крыс.**



У контрольных животных наблюдалось максимальное нарастание объема воспаленной лапки, которое сохранялось через 1,5; 3 и 6 часов. Объем воспаленной лапки под действием настоя «арфазетина» во все сроки экспериментов были достоверными .

Полученные результаты в ходе экспериментов свидетельствуют о проявлении активного противовоспалительного действия настоя сбора «Чорбарг» при гистаминовом и серотониновом отеках.

На основании противоотёчного действия настоя сбора «Чорбарг» можно судить и о возможном наличии у него ангиопротективного действия. Это, связано с содержанием биологически активных веществ витаминов (С), рутина, флавоноидов и др. При сахарном диабете имеет место снижение иммунологического статуса организма, которое обуславливает развитие различных его осложнений, т.к. страдает макрофагальная система организма. У больных вследствие этого развивается гнойно-септическое заболевание (Н. С. Леонова, 2005; Е. Е. Лесиовская и соавт., 2005).

У интактных животных фагоцитарная активность нейтрофильных лейкоцитов на 30 сутки количество нейтрофилов, содержащихся в цитоплазме частицы латекса, составляло  $54,3 \pm 3,9\%$ . У животных, леченных настоем сбора «Чорбарг» наблюдалось восстановление фагоцитарной активности нейтрофилов. Через 30 дней количество нейтрофилов было равно  $54,8 \pm 0,29\%$ .

У крыс с леченых настоем «Арфазетин» практически не оказывало влияния на фагоцитарную активность нейтрофильных лейкоцитов. Количество нейтрофильных лейкоцитов, содержащих частицы латекса через 30 дней от составило  $52,5 \pm 0,5\%$ .

Таким образом, иммуностимулирующий эффект настоя сбора «Чорбарг» связан с наличием большого количества флавоноидов и других биологических активных веществ в растениях входящих в состав изучаемого сбора.

Местное действие настоя сбора «Чорбарг» изучалось нанесением свежеприготовленного сбора «Чорбарг» (1:10) на предварительно очищенные от шерсти участки кожи и в конъюнктиву глаз, а также в полость носа подопытным животным в течение 1 месяца. Состояние зрачков у опытных животных во всех случаях было идентично состоянию зрачков у интактных животных. Отёк, слезотечение, птоз отсутствовали. В этой связи, поиск новых антидиабетических средств растительного происхождения, стимулирующих систему резистентности организма, имеет важное практическое значение.

Экспериментами установлено, что 1 месячное смазывание кожи настоя сбора «Чорбарг» не вызывает каких-либо изменений токсического характера со стороны кожных покровов. Гиперемия, отек, ссадины, волдыри, эритема, шелушения, местная температурная реакция и другие признаки местно-раздражающего эффекта после применения препарата отсутствовали. Кожные покровы оставались эластичными и мягкими.

Длительное применение настоя сбора «Чорбарг» (1:10) в конъюнктиву глаз и полость носа животным также не оказывало каких-либо признаков раздражающего действия.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии местно-раздражающего действия настоя сбора «Чорбарг», приготовленной из расчета 1:10.

С целью выяснения степени безвредности испытуемого настоя, и в соответствии с требованиями Фармакологического комитета Министерства здравоохранения Республики Таджикистан, была изучена острая токсичность.

Показатели токсичности настоя сбора «Чорбарг» при пероральном, а также подкожном введении определяли по Керберу (Г. Н. Першин, 1959). Предел наблюдения за подопытными животными при определении острой токсичности препарат составил 12 суток. В период наблюдений не каких-либо изменений общего состояния, поведения, двигательной активности, волосяного и кожного покрова, физиологических отправления животных не наблюдалось. Шерсть у животных была гладкой, блестящей. Выделения из естественных отверстий отсутствовали. Передние и задние конечности без патологических изменений. Смертельных исходов у белых мышей ни у белых крыс не было. При внутрибрюшинном введении настоя сбора «Чорбарг» в дозе 30 и 60 мл/кг массы гибель животных также не отмечалось. Таким образом, настой сбора «Чорбарг» (1:10) можно отнести к нетоксичным лекарственным средствам.

При изучении хронического эксперимента, была изучена степень безвредности настоя сбора «Чорбарг» (1:10). Свежеприготовленный настой ежедневно вводился внутрижелудочно в течение 5 месяцев, в одно и то же время.

Животные были распределены на 3 группы: 1 - контрольные, которым ежедневно в течение 5 месяцев в/ж вводили дистиллированную воду из расчета 5 мл/кг массы; 2 – опытные крысы, которым в течение 5 месяцев в/ж вводили настой сбора «Чорбарг» (1:10) из расчета 2 мл/кг массы; 3 - опытные крысы, которым в течение 5 месяцев в/ж вводили настой сбора «Чорбарг» (1:10) из расчета 5 мл/кг массы;

Выживаемость опытных крыс была высокой. Из 20 подопытных крыс, получавших настой сбора «Чорбарг» (1:10) в дозах 2 и 5 мл/кг массы, выжили в обоих случаях 19 крыс, что составляет 95%. Летальный исход был равен 5%.

В ходе ежедневных наблюдений за животными опытной и интактной групп внешнй вид, поведенческая и двигательная активность, количество съеденной пищи и выпитой жидкости практически не отличалось. При осмотре видимых слизистых и кожных покровов у животных получавших ежедневно настой сбора «Чорбарг», какого - либо патологического изменения эпителия или признаков воспаления и аллергии не было выявлено, т.е. ничем не отличались от результатов исследования интактных животных. Проведенные исследования каловых масс опытных и контрольных крыс признаков кровотечения в

желудочно-кишечном тракте не обнаружили. Опыты показали, что в течение пятимесячного-ежедневного внутрижелудочного введения, настоя сбора «Чорбарг» (1:10), выраженных токсических изменений не наблюдается.

В условиях хронического эксперимента прирост веса имела следующую картину: у животных, получавших настой сбора «Чорбарг» в дозе 5 мл/кг массы, прирост веса через 30 дней составлял 9% против 8% контрольных крыс. На 60 и 90 дни исследования, показатели прироста веса у опытных животных получавших настой сбора «Чорбарг» в дозе 5 мл/кг массы прирост составлял 14% и 10% против 9,6% и 9,2% контрольных животных, почти во всех случаях были идентичными.

Прирост веса у крыс получавших 2 мл/кг массы настой сбора «Чорбарг» составлял 10,8 % через 30 дней и 16,1 % через 90 дней. После в/ж введения испытываемых доз настоя сбора «Чорбарг» животные были спокойными, двигательная активность и ориентировочная реакция не повышались.

У животных, получавших настой сбора «Чорбарг» в дозах 2 и 5 мл/кг массы в условиях хронического эксперимента, среднее количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов и концентрация гемоглобина несколько повышенными по сравнению с результатами исследования контрольной серии животных (табл. Показатели СОЭ в большинстве случаев были статистически достоверно  $4,1 \pm 1,2$  (0,5) ниже, чем у контрольных крыс, что свидетельствует об отсутствии гематотоксического эффекта настоя сбора «Чорбарг».

Важной задачей, при разработке новых лекарств является изучение действия их на секреторную функцию печени. Внутрижелудочное введение настоя сбора «Чорбарг» в процессе 120 дней в дозе 2 и 5 мл/кг массы не вызывало достоверных изменений со стороны обмена общего белка, билирубина и ферментов переаминирования (АСТ и АЛТ) в составе сыворотки крови .

Настой «Чорбарг», введенный в/ж в дозах 2 и 5 мл/кг массы крысам в течение 5-ти месяцев не оказывал каких либо изменений со стороны белковой и ферментообразующей функции печени. Однако, содержание холестерина он немного снижал. Эти свойства крайне ценны для антидиабетических препаратов в терапии больных сахарным диабетом 2 типа и профилактики его ангиопатий.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что длительное введение настоя сбора «Чорбарг» не влияет на секреторную функцию печени, а напротив в какой - то степени вызывает активацию её функции .

Таким образом, сбор «Чорбарг» безвреден при 5-ти месячном применении, что дает основание для длительного его применения.

## Выводы

1. Антидиабетический сбор «Чорбарг» обладает эффективным гипогликемическим действием на моделях экстрапанкреатической (тест толерантности к глюкозе), адреналиновой гипергликемии, гиперхолестериновой диеты у белых крыс.
2. Сбор «Чорбарг» вызывает эффективное гиполипидемическое действие на модели гиперхолестериновой диеты, что проявляется снижением высокого уровня холестерина, триглицеридов, ЛПНП и ЛПОНП, в то же время повышает низкое содержание ЛПВП. Также сбор обладает гипокоагулирующим свойством, что важно для профилактики осложнений сахарного диабета.
3. Сбор «Чорбарг» оказывает выраженное противовоспалительное действие, проявляющееся в уменьшении и подавлении гистамин-серотонинового отека лапок у белых крыс, оказывает иммунокорригирующее действие, проявляющиеся повышением фагоцитарной активности нейтрофилов и снижении активности комплемента.
4. Настой сбора «Чорбарг» (1:10) не обладает местно-раздражающим действием. При ежедневном 5-ти месячном пероральном введении в дозах 2 и 5 мл/кг массы тела не вызывает каких – либо патологических изменений со стороны печени и кроветворной системы.
5. По полученным результатам настой сбора «Чорбарг» (1:10) рекомендуется для клинических испытаний при сахарном диабете 2 типа легкой и средней степени тяжести.

## Практические рекомендации

Полученные результаты позволяют рекомендовать настой сбора «Чорбарг» в качестве гипогликемического, гиполипидемического, иммунокорректирующего средства при лечении сахарного диабета II типа легкой и средней степени.

Результаты экспериментальных исследований могут быть представлены в Фармакологический комитет Министерства здравоохранения Республики Таджикистан для получения разрешения на клиническое испытание и применение в медицинской практике.

### Список опубликованных работ по теме диссертации:

1. Музафарова М.Х. Дары природы /Долимова П.И.// «Вестник Авиценны», №2 2006, стр.103-106
- 2.Музафарова М.Х. Влияние листьев винограда культурного на некоторые иммунологические показатели при экспериментальном диабете /Долимова П.И. Юлдошева У.П.// Сборник матер.55-й НПК ТГМУ. Душанбе, 2007, стр. 79-80
- 3.Ишанкулова Б.А. Влияние фитосбора на течение экспериментального сахарного диабета /Музафарова М.Х., Долимова П.И. Юлдошева У.П. // XV Российский националь-ный конгресс «Человек и лекарство», Москва, 2008, стр. 630
4. Ишанкулова Б.А. Гиполипидемическое действие настоя листьев винограда культурного XVI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», Москва, 2010, стр.630 /Музафарова М.Х.,Мироджева С.Г. , Юлдошева У.П. //
5. Ишанкулова Б.А . Гипогликемическое действие антидиабетического сбора «Чорбарг» /Музафарова М.Х. Юлдошева У.П. // «Вестник Авиценны», №1 2011, стр.94-98
- 6.Ишанкулова Б,А., Музафарова М.Х., Исматов С.Н., Юлдошева У.П. Гиполипидемические и иммунокорректирующие свойства «Чорбарг».НПИ Центр, депонирован, №242 от 13.04. 2012 г.

**Типография ТГМУ им. Абуали ибни Сино**

*Сдано в печать 19.04.2012г. Подписано к печати 22.04.2012г.  
Формат 60/84<sup>1/16</sup> Бумага офсетная 80<sup>2</sup>/м<sup>2</sup>. Тираж 100 экз.  
Заказ № 550.*