

**Петенг де Вогренан де Кюнъяк Джамиля Тимуровна**

**ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ  
СВОЙСТВ СРЕДСТВА «РУХМИН»  
(экспериментальное исследование)**

**14.03.06 - фармакология, клиническая фармакология**

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



**Душанбе 2012**

**Работа выполнена в отделе обмена веществ, иммунологии и фармакологии  
Государственного научно-исследовательского Института питания при  
Министерстве Энергетики и Промышленности Республики Таджикистан.**

- Научный руководитель:** доктор медицинских наук  
**Саидов Алижан Аброрович**  
Институт химии им. В.И. Никитина  
АН Республики Таджикистан
- Научный консультант:** кандидат химических наук  
**Курбанов Мансур Курбанович**  
ведущий научный сотрудник ГНИИ  
Института питания
- Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук  
**Шакиров Юсуф Ахмедович**  
Таджикский государственный медицинский  
университет им. Абуали ибн Сино
- доктор биологических наук, профессор  
**Мухамедова Светлана Галиевна**  
Таджикский государственный медицинский  
университет им. Абуали ибн Сино
- Ведущая организация:** Таджикский институт гастроэнтерологии,  
лаборатория патофизиологии и фармакологии

Защита состоится «21 » мая 2012 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета КМ 047.003.01 при Институте химии им.В.И. Никитина АН Республики Таджикистан по адресу: 734063, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2.

Сайт института: [www.chemistry.tj](http://www.chemistry.tj)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан.

Автореферат разослан « 20» апреля 2012 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук



Рахимов И.Ф.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность.** Поиск новых источников получения эффективных биологически активных веществ природного происхождения остается одной из важнейших проблем отечественного здравоохранения. К таким средствам по праву можно отнести средства, обладающие адаптогенным, противовоспалительным, тонизирующим свойствами. Так, проблема оздоровления населения и ранняя профилактика, связанные в основном с недостатком витаминов и жизненно важных микроэлементов в организме, особенно в стрессорных состояниях и в период физических нагрузок, по сей день, остается одной из актуальных проблем современной медицины. В том числе, необходимо отметить важность поиска и получения средств, имеющих адаптогенные, противовоспалительные и другие свойства, которые по праву вошли в золотой фонд современной фармакологии и фитотерапии. История их применения в традиционной зороастрийской, китайской и персидско-таджикской медицине насчитывает почти десяток тысяч лет. В современной медицинской практике, широко используются так называемые растительные тонизирующие адаптогены как женьшень, радиола розовая, элеутерококк колючий и другие природные средства. И сегодня разработка отечественных биоактивных средств на основе экологически чистого природного сырья флоры Таджикистана считается одной из актуальнейших задач отечественной фармакологии и фитотерапии. В то же время, несмотря на огромное число имеющихся химических препаратов, одним из приоритетных направлений по сей день, остается поиск новых биоактивных добавок из числа природных средств (целебных растений, овощей, и фруктов), которые обладают широким спектром фармакологического действия. Следует отметить, что разработка и внедрение экономически рентабельных препаратов, полученных на основе местного природного растительного сырья, не только расширяет арсенал подобных средств, но и имеет большое значение в развитии отечественной фармацевтической промышленности.

**Цель исследования:** Изучение фармако – биохимических свойств средства «Рухмин», полученного на основе винограда, восточной хурмы и шелковицы, произрастающих в Таджикистане.

### **Задачи исследования:**

1. Изучить защитно-адаптогенное свойство средства «Рухмин»
2. Исследовать противовоспалительное действие средства «Рухмин»
3. Определить гепатозащитное влияние средства «Рухмин» при подострой интоксикации (CCL<sub>4</sub>)
4. Установить степень безопасности для практического его применения.

**Научная новизна результатов исследования.** Средство «Рухмин», полученное на основе винограда, восточной хурмы и шелковицы, произрастающих в Таджикистане является биологически активной добавкой (БАД). Впервые всесторонне изучены его фармакологические свойства,

составлена разносторонняя широкая его характеристика, при этом были выявлены защитно-адаптогенные, гепатозащитные, противовоспалительные свойства средства «Рухмин» и доказана степень его безопасности.

**Практическая ценность результатов исследования.** Впервые установлено, что средство «Рухмин» обладает защитно-адаптогенным, противовоспалительным и гепатозащитным влиянием. Обоснованы показания к применению средства «Рухмин» в качестве дополнительного защитно-адаптогенного, противовоспалительного, витаминизированного вспомогательного биостимулирующего средства для комплексной терапии при недостатке жизненно важных витаминов и микроэлементов. Внедрение средства «Рухмин» в практическую медицину имеет важное социально-экономическое значение для населения Таджикистана.

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

1. Защитно-адаптогенное свойство средства «Рухмин»
2. Противовоспалительная активность средства «Рухмин»
3. Гепатозащитное влияние средства «Рухмин»
4. Средство «Рухмин» является биостимулирующей активной добавкой (БАД), проявляющей свое влияние в экстремальных ситуациях.

**Внедрение результатов исследования.** Материалы доклинического изучения средства «Рухмин» будут представлены в Фармакологический Комитет Министерства Здравоохранения Республики Таджикистан для получения разрешения на его клиническое испытание в качестве профилактической витаминизированной пищевой добавки в комплексной терапии различных заболеваний. Результаты проведенного исследования используются в учебном процессе кафедр фармакологии и биохимии Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибн Сино, Таджикского государственного национального и Таджикского технологического университетов.

**Публикация результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 4 научные работы, в журналах, рецензируемых ВАК РФ, в том числе получен патент Республики Таджикистан.

**Личный вклад автора** в работы, включённые в диссертацию, заключался в теоретическом обосновании цели, положений и задач, а так же в практическом их выполнении, в непосредственном участии во всех этапах исследования, проведении экспериментов, статистической обработке полученных результатов, написании и оформлении публикаций.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации доложены на расширенном заседании учёного Совета ГННИИ питания и на годовых научно-практических конференциях ТГМУ РТ и института химии им. В.И.Никитина АН РТ.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 109 страницах компьютерного текста, включая оглавление, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования; двух глав с изложением результатов

собственных исследований, обсуждения полученных результатов и выводов, указателя литературы. Список литературы включает 197 наименований.

### **Материалы и методы исследования**

Для проведения экспериментальных исследований были использованы животные обоего пола: беспородные кролики в количестве 50 штук, весом от 2000 до 3000г, беспородные белые крысы в количестве 200 штук, массой тела 157-210г, белые мыши в количестве 100 штук, массой тела 18–25 г. В зависимости от цели, характера и продолжительности экспериментов, животные были разделены на следующие группы. Интактные (здоровые) животные, на которых проводили исследования основных функций без введения, каких либо веществ; контрольные животные, которым вводили элеутерококк; опытные животные с введением изучаемого средства «Рухмин».

Предметом исследования являлось средство «Рухмин», полученное по разработанной нами лабораторной технологии из плодов винограда, шелковицы и восточной хурмы произрастающих в Таджикистане (Получен малый патент №Тј 420 от 15.12.2010). С целью выяснения характера действия средства «Рухмин» нами были изучены адаптогенное, противовоспалительное, гепатозащитное свойства и его безвредность при хроническом введении. Характер действия средства «Рухмин» в отношении физической работоспособности и устойчивости (выносливости) животных к физической нагрузке изучали по методике «плавания» на крысах, а также с использованием методики «висячие канатики» на мышах (Брехман И.И., 1963), которые проводили в лаборатории кафедры фармакологии ТГМУ<sup>1</sup>. Об антиоксидантном действии Рухмина судили по содержанию маллонового диальдегида в составе сыворотки крови экспериментальных животных в течение одного месяца получавших разные дозы испытуемого вещества. Содержание МДА определялось по общепринятой методике. Серотониновый и гистаминовый артриты вызывали путём инъекции под плантарный апоневроз задней лапки, соответственно 0,1 мл, 0,05% раствора серотонина и гистамина. Формалиновый артрит вызывали путём инъекции 0,1 мл. 2,5% раствора формалина. Величину воспалительного отёка отределяли по увеличению объёма стопы онкометрическим методом (Николаевский В. В., 1941г.). Влияние испытуемого вещества на проницаемость кожных капилляров изучали по методу (Нуралиева Ю.Н. и Медника Г.Л., 1970г.). В качестве подострого токсического гепатита была выбрана модель подострого поражения печени четыреххлористым углеродом (CCl<sub>4</sub>), который вводился животным подкожно в дозе 2 мл/кг массы тела 3 раза в неделю в смеси с хлопковым маслом (1:10) в течение 30 дней (Арчаков А.И., 1963, 1978; Подымова С.Д., 1995). Гепатозащитное влияние средства сравнивали с лечебным эффектом известного болгарского препарата карсил. Полученные результаты статистически обработаны по Стьюденту, а так же по упрощённой методике, с определением ошибки средних арифметических показателей (Белоус А. К., Колодяжный В. И., 1971г.).

### **Собственные исследования**

### Физико-химическая характеристика и получение средства «Рухмин».

Сырьем для получения средства «Рухмин» служили соки, полученные на соковыжимателе из винограда, восточной хурмы и шелковицы. Для того, чтобы в густом экстракте качественно сохранились жизненно важные биологически активные вещества, сгущение соков проводилось при температуре не выше 50°C в вакууме. Для этого использовали роторный испаритель с вакуумным насосом. Содержание сухих веществ определялось рефрактометрическим методом, аскорбиновая кислота в полученном густом экстракте определялась по методам указанным в ГФ.Х1 [3]. Сухой остаток определяли рефрактометрическим методом. Плотность определяли пикнометрическим методом. Измерение pH проводилось на приборе pH-метр производства METLER TOLEDO (Швейцария).

Атомно-адсорбционным методом было произведено количественное определение содержания в них жизненно важных микроэлементов. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Табл. 1

Физико-химические показатели густого экстракта  
(винограда, шелковицы и хурмы восточной)

Наименование Соков	Показатель преломления	Плотность г/см <sup>3</sup>	pH	Сухой остаток г/100*	Витамин С в мг/%
Виноградный	1,4565	1,338	6,41	67,6	22,0
Шелковица	1,4570	1,414	6,61	67,4	16,0
Хурма	1,4525	1,386	6,72	51,44	42,0

\* в 5 мл сухой остаток составляет 92,2±0,5мг

Как видно из таблицы 1 значение pH и содержание сухих остатков соков незначительно отличаются друг от друга. Однако наблюдается отличие в содержании аскорбиновой кислоты, где количество аскорбиновой кислоты в хурме в два раза больше, чем в винограде и шелковице. В табл.2 приведены результаты элементного анализа вышеуказанных продуктов.

Табл.2

Содержание микроэлементов в 100 г сырья

Наименование сырья	Fe мг/%	Zn мг/%	Cu мг/%	Si мг/%	Cr мкг/%	I <sub>2</sub> мкг/%
Виноград	11,4	0,78	1,2	13,6	4,1	6,0
Шелковица	18,7	1,6	0,8	17,3	2,4	следы
Хурма	14,5	0,6	0,3	10,4	следы	следы

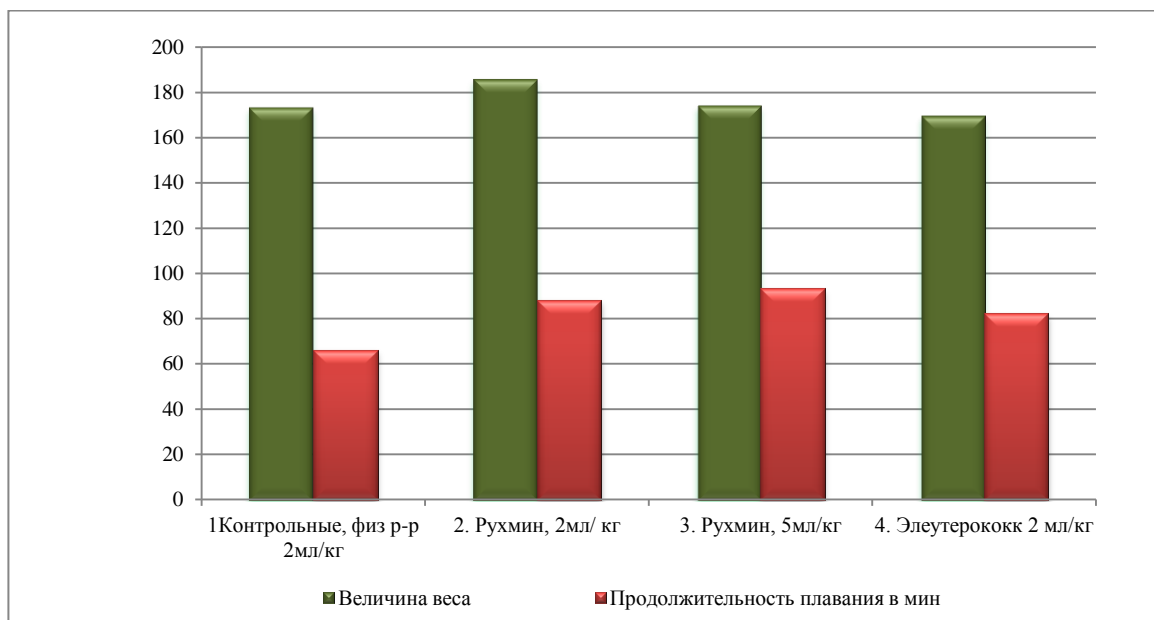
Таким образом, проведенные исследования показывают, что средство «Рухмин» благодаря наличию в составе вышеуказанных микроэлементов, может стать источником жизненно важных микроэлементов и витаминов. Адаптогенное свойство средства «Рухмин» определялось в экспериментах, связанных с выяснением характера его действия при физической нагрузке.\*Средство

«Рухмин» предварительно было разведёно дистиллированной водой в соотношении 1:10. Белые крысы были распределены на следующие группы; 1 – контрольная, животные которой получали внутрижелудочно физиологический раствор из расчета 2 мл/кг массы тела за 40 минут до проведения эксперимента; 2 – экспериментальные животные, получавшие «Рухмин» внутрижелудочно в дозе 2 мл/кг массы тела однократно; 3 – 4 группы опытные животные, получавшие «Рухмин» в дозе 5 мл/ кг массы тела однократно и ежедневно в течение одного месяца, 5 группа белых крыс получала в дозе 2 мл/кг массы тела – элеутерококк, животным 6 группы вводили внутрижелудочно элеутерококк в такой же дозе, в течение одного месяца.

*\*Автор благодарит профессора Ишанкулову Б. А. и сотрудников её кафедры за оказанную помощь при проведении этих исследований.*

Рисунок 1

### Влияние средства «Рухмин» на продолжительность плавания белых крыс



В ванну размером 50х60 см и глубиной 50 см заполненную до постоянного уровня комнатной температуры (22 – 24С<sup>о</sup>) одновременно помещались по 3 контрольных и 3 подопытных крысы. В процессе эксперимента все животные находились в состоянии постоянного движения. Все крысы плавали до полного утомления и вынужденного погружения на дно ванны. Экспериментальных белых мышей распределяли на 3 группы; 1 – контрольная, получавшая физиологический раствор из расчета 2 мл/кг массы тела; 2 – подопытные животные, получавшие за 40 минут до физической нагрузки экстракт «Рухмин» из расчета 2 мл/кг массы тела; 3 – белые мыши, которым по той же схеме до физической нагрузки внутрижелудочно вводили настойку элеутерококка из расчета 2 мл/ кг массы тела. Полученные результаты представлены на слайде 1.

Об антиоксидантном действии Рухмина судили по содержанию маллонового диальдегида в составе сыворотки крови экспериментальных

животных в течение одного месяца получавших разные дозы испытуемого вещества. Полученные результаты представлены в таблице 3. Как видно из таблицы, контрольные, не получавшие Рухмин крысы, в среднем плавали 66,16±4,1 мин. Опытные животные, получавшие внутрижелудочно «Рухмин» в дозе 2 мл/кг массы тела животного однократно, плавали в среднем 93,30±5,0 мин., а физическая работоспособность и выносливость под воздействием исследуемого вещества усиливалась на 20% ( $P < 0,001$ ). Физическая нагрузка, продолжающаяся до полного утомления, сопровождается глубоким нарушением окислительных процессов в мышцах (Саратиков А.С., 1987), а также активацией процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) (Меерсон Ф.З., Пшенникова А., 1993). Активизация ПОЛ является одним из механизмов дестабилизации клеточных мембран (Венгеровский А.И., 2004; Altavilla D., 2001). Поэтому, изыскание новых лекарственных средств, обладающих антигипоксическими и антиоксидантными свойствами, является важным в теоретическом и практическом отношении (Мельникова В., 2002; Хасанова Р.С., 2003; Лесиовская Е.Е. и соавт., 2006; Yu C., 2002).

Актопротекторное действие испытуемого средства «Рухмин» заметно возрастало при ежедневном внутрижелудочном его введении в течение одного месяца. Продолжительность плавания экспериментальных животных в результате ежедневного в течение 30 дней введения «Рухмина» удлинялась в среднем до 93,30 мин (на 47,4%) в сравнении к 66,16 мин. контрольной группы. Увеличение разовой дозы «Рухмина» до 5 мл/кг массы тела, после многократного в течение месяца его введения, приводила к повышению устойчивости белых крыс к физическим нагрузкам, в среднем она возрастала до 70,84 мин., что составляет 55,4%, в сравнении с контрольной группой ( $P < 0,001$ ).

Табл.3

**Влияние средства «Рухмин» на продолжительность плавания белых крыс**

Серия опытов и дозы мл/кг массы	Количество животных	Величина веса	Продолжительность плавания в мин.
1 Контрольные Физ. р-р 2мл/кг	8	173,3± 1,3	66,16±4,1
2. Рухмин 2мл/ кг	8	185,8±0,9	88,16± 4,9
3. Рухмин 5мл/кг	8	174,12±2,1	93,30±5,0
4. Элеутерококк	8	169,6±1,8	82,25±3,5

Табл.4

**Актопротекторное действие средства «Рухмин»**

Серия опытов и дозы мл/кг массы	Кол-во животных	Величина веса	Продолжительность плавания в мин.
1. Контрольные Физ. р-р 2мл/кг	12	265,20±4,32	59,04±0,05
2. Рухмин 2мл/кг	12	265,20±4,32	70,84±0,05
3. Рухмин 5 мл/кг	12	265,31±4,27	93,3±4,9
4. Рухмин 5мл/кг месяц	12	265,20±4,32	88,16±4,7
5. Элеутерококк 2мл/кг	12	240,3±8,78	80,84±0,05

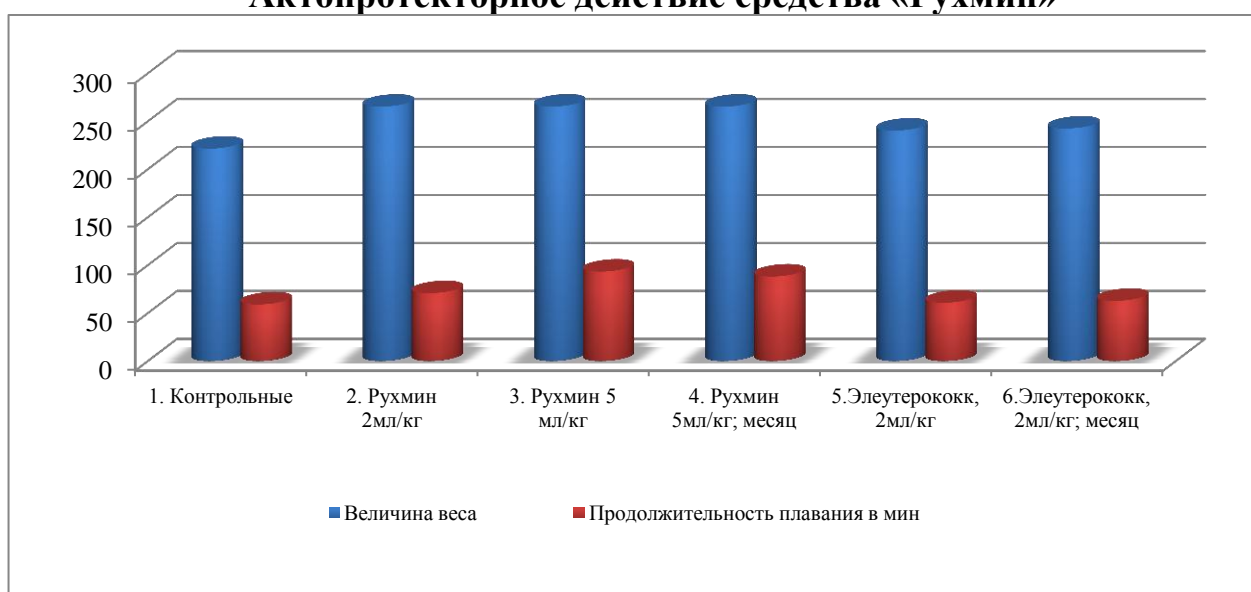


6. Элеутерококкмесяц 2мл/кг	12	242,41±8,64	82,8±3,7
-----------------------------	----	-------------	----------

В результате экспериментов, проведенных на белых мышах, были получены аналогичные результаты. Контрольные белые мыши в среднем удерживались на висячих канатиках 11,0 – 0,3 мин. Подопытные животные, получавшие «Рухмин» в дозе 5мл/кг массы тела за 40 мин.до начала физической нагрузки, удерживались на висячих канатиках 22,4±0,3 мин. Под влиянием изучаемого средства физическая выносливость белых мышей повышалась на 88,4% (P<0,001 ). Взятый для сравнения элеутерококк в идентичной с «Рухмином» дозе, повышал в среднем выносливость экспериментальных животных к физической нагрузке лишь на 60% по сравнению с контролем.Актопротекторное свойство экстракта элеутерококка оказалось в среднем на 28,5 % слабее, чем у исследуемого намисрества«Рухмин». Полученные данные представлены на слайде 2.

Рисунок 2

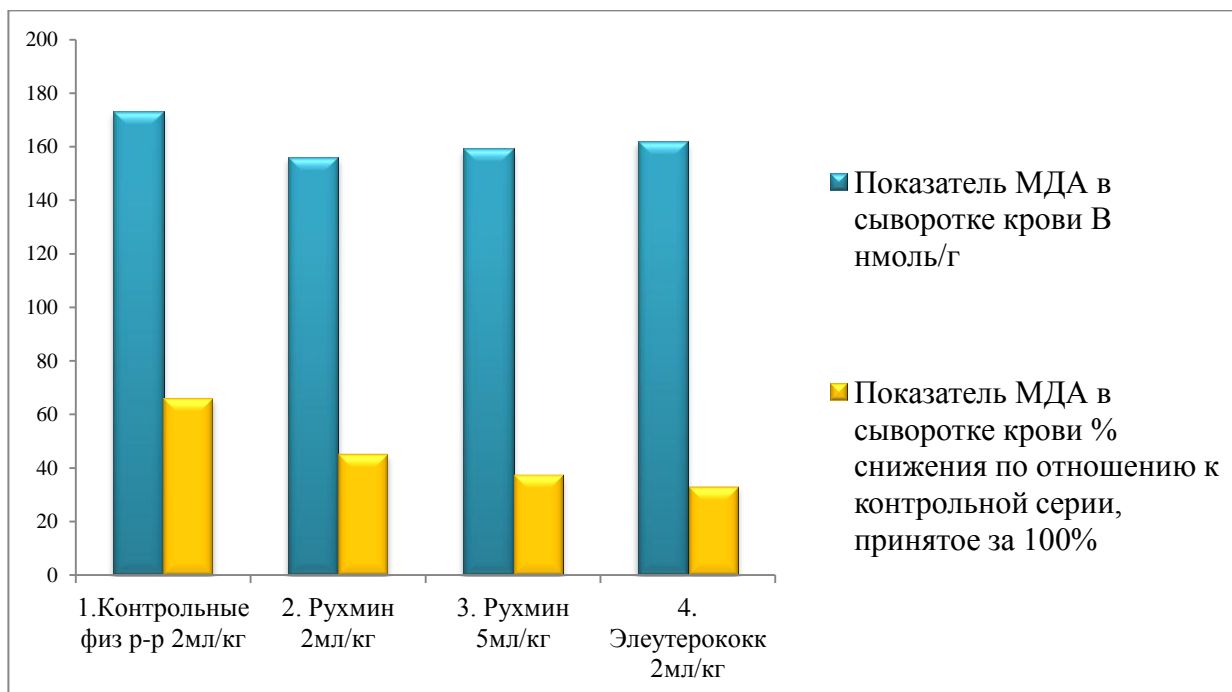
**Актопротекторное действие средства «Рухмин»**



Исходя извышесказаного, нами было изучено влияние длительного (30-дневного) внутрижелудочного введения «Рухмина» на обмен перекисного окисления липидов в условиях подострого эксперимента. Изучаемые дозы (2 и 5 мл/кг массы тела) средства «Рухмин» вводились ежедневно внутрижелудочно в течение одного месяца. Через 40 минут после внутрижелудочного введения последних доз «Рухмина», животные подвергались воздействию физической нагрузки – плаванию до полного утомления. После проведенного эксперимента,животные забивались методом декапитации с производением забора крови для проведения биохимических исследований.

Рисунок3

**Влияние средства «Рухмин» на МДА**



О характере действия «Рухмина» в отношении обмена перекисного окисления липидов, судили по уровню маллонового диальдегида (МДА) в составе сыворотки крови.

Как видно из представленной таблицы 5 уровень маллонового диальдегида в сыворотке крови опытных крыс, получавших в течение 1-го месяца до физической нагрузки средство Рухмин в дозе 2 мл/кг массы тела, в среднем на 17,6% был ниже, чем у животных контрольной серии ( $P < 0,05$ ). Антиоксидантная активность средства Рухмин заметно возрастала при применении Рухмина в дозе 5 мл/кг массы тела.

Таблица 5

**Уровень маллонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови у белых крыс, получивших в течение 30-ти дней средство Рухмин и подвергавшихся однократному воздействию физической нагрузки (в среднем по 8-10 крыс в каждой серии)**

Серия опытов и дозы в мл/кг массы	Показатель МДА в сыворотке крови		
		В нмоль/г $M \pm m$ $P < 0,01$	% снижения по отношению к контрольной серии, принятое за 100%
1 Контрольные Физ. р-р 2мл/кг	8	173,3 ± 1,3	66,16 ± 4,1
2. Рухмин 2мл/кг	8	155,9 ± 0,9	45,34 ± 5,0
3. Рухмин 5мл/кг	8	159,3 ± 1,1	37,70 ± 3,8
4. Элеутерококк 2мл/кг	8	162,12 ± 2,1	33,20 ± 4,9

Примечание: в % по отношению к контролю, принятого за 100 %. Степень достоверности  $P < 0,05$  по отношению к контролю.

У животных данной серии уровень МДА в составе сыворотки крови уменьшался на 30,5% ( $P < 0,01$ ) по сравнению с соответствующими показателями контрольных животных, при этом наблюдался прямой параллелизм между антиоксидантным и актопротекторным свойствами «Рухмина». Механизм антиоксидантного свойства «Рухмина», на наш взгляд, связан с наличием в его составе микроэлементов цинка, меди и других.

О **противовоспалительном** свойстве густого сиропа винограда и шелковицы было известно ещё в глубокой древности и отмечено в трудах Авиценны, Мухаммад Закрия Рази и в народной медицине Таджикистана. Тем не менее, несмотря на их широкую популярность, по сей день, указанные сиропы с позиции современной науки не были изучены. Известно, что воспалительный процесс состоит из весьма сложных и тесно взаимосвязанных компонентов, каждый из которых играет определенную роль в патогенезе данного процесса. В связи с вышеизложенным нами была поставлена задача изучить влияние средства «Рухмин» на экссудативную и пролиферативную фазы воспалительного процесса. О влиянии испытуемого вещества на экссудативную фазу воспалительного процесса судили по характеру его действия на проницаемость кожных и брюшных капилляров, а также по тому, как уменьшался гистаминовый, серотониновый и формалиновый отек лапок у лабораторных животных. Эффективность Рухмина в отношении пролиферативной фазы воспалительного процесса оценивали по выраженности его профилактического эффекта на поздних стадиях формалинового артрита. Влияние «Рухмина на проницаемость кожных капилляров и при экспериментальном асците было изучено на 40 белых мышах массой 20,0-29,0 г. Экспериментальные животные были распределены на следующие группы: 1 – контроль; 2, 3 – животные, получавшие «Рухмин» в дозах 2мл/кг и 5мл/кг массы тела внутрижелудочно за 40 мин до внутрибрюшинной инъекции индикатора проницаемости капилляров синьки Эванса. Полученные результаты представлены в табл.6.

Табл.6

**Влияние средства «Рухмин» на проницаемость кожных капилляров белых мышей (n=24)**

Группа животных идоза, мл./кг	Скорость окрашивания кожи	
	С	%
Контроль	148,8±1,9	100
Рухмин, 2мл/кг	236,0±3,6 $P < 0,05$	156
Рухмин 5мл/кг	279,7±4, 2 $P < 0,001$	170
Бутадион 2мл/кг	284,3±2,9 $P < 0,001$	185

Бутадион 5мл/кг	294,5±2,9 P<0,001	192
-----------------	----------------------	-----

Примечание: Значение P< для контрольных дано по отношению к интактным животным, а для леченных –по отношению к контролю.

Установлено, что у мышей контрольной группы время окрашивания кожи лапки после нанесения ксилола наступило в среднем через 148,87±1,9сек. Предварительное внутрижелудочное введение испытуемого «Рухмина» достоверно уменьшало проницаемость кожных капилляров (P<0,001). Время окрашивания кожи лапки у крыс, получавших «Рухмин» в дозе 5мл/кг массы тела по отношению к контрольным удлинялось соответственно, на 62% и 66%, а у мышей, получавших бутадион в дозе 5мл/кг массы тела - на 96% и 93% соответственно. Противовоспалительные свойства бутадиона по сравнению с испытуемым веществом проявлялись незначительно эффективнее. Влияние «Рухмина» на проницаемость брюшных капилляров изучали на экспериментальной модели перитонита на белых мышах весом 25-28 г. Сущность метода заключается в следующем. Животным за 40 мин до внутрибрюшинной инъекции формалина (0,04 мл 0,5% раствора) внутрижелудочно вводили испытуемые «Рухмин» и препарат сравнения бутадион из расчета 2мл - 5мл/кг массы тела. Через 4 ч после введения формалина животных забивали путем декапитации, измеряли объем накопленной асцитической жидкости, полученной из брюшной полости опытных и контрольных мышей, и судили о характере действия изучаемых препаратов на проницаемость брюшных капилляров.

Полученные данные представлены в табл.7.

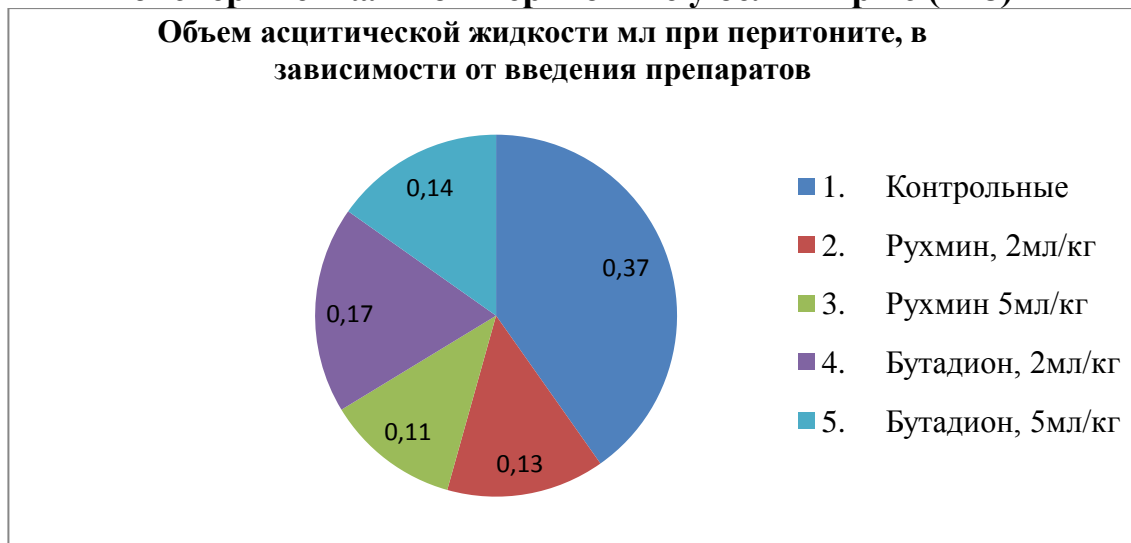
**Табл. 7**

**Влияние средства «Рухмин» на проницаемость брюшных капилляров**

Группа животных и доза, г/кг	Объем асцитической жидкости	
	мл	%
	Введение 0,4 мл 0,5% формалина	
Контрольные	0,37±0,003 P<0,001	100
Рухмин, 2мл/кг	0,13±0,004 P<0,001	65,4
Рухмин, 5мл/кг	0,11±0,002 P<0,001	68,5
Бутадион, 2мл/кг	0,17± 0,002 P<0,001	53,5
Бутадион, 5мл/кг	0,14 ± 0,001 P<0,001	61,6

Примечание: ЗначениеP в сравнении с контролем

**Противовоспалительные свойства средства «Рухмин» при экспериментальном перитоните у белых крыс (n=8)**



Как показали результаты исследования при экспериментальном перитоните, у контрольных крыс количество накопленной за 4 ч асцитической жидкости было равно  $0,37 \pm 0,003$  мл.

Введение «Рухмина» в дозе 2мл/кг и 5мл/кг массы тела уменьшало объем асцитической жидкости по сравнению с контролем соответственно на 65,4% и 61,6%, в то же время у животных, получавших бутадион, введенный по вышеуказанной схеме в дозе 2мл/кг и 5мл/кг массы тела, показатели были значительно выше, по сравнению с «Рухмином». Полученные нами результаты свидетельствуют об уменьшении проницаемости брюшных капилляров, а также о наличии выраженного ангиопротективного действия у испытуемого «Рухмина». Очевидно, с этим свойством связана эффективность «Рухмина» в экссудативных фазах воспалительного процесса. Влияние исследуемого нами средства «Рухмин» на течение гистаминового, серотонинового и формалинового артритов было изучено на 45 половозрелых белых крысах массой 180 - 200 г с перерывами через каждые 25 дней. Все крысы, были разделены на 4 группы: 1 – контрольные животные, которым вводили под апоневроз голеностопного сустава 0,01мл 2,5% раствора формалина; 2, 3 – животные, которым за 40 мин до введения формалина под апоневроз голеностопного сустава внутривентриально вводили «Рухмин» в дозах 2мл/кг и 5мл/кг массы тела; 4 – крысы, которым вводили бутадион по вышеуказанной схеме. Серотониновый и гистаминовый артриты у белых крыс вызывали инъекцией под апоневроз голеностопного сустава 0,1 мл и 0,05 мл 0,1% раствора соответствующих медиаторов воспаления. О величине воспалительного отека судили по увеличению объема стопы по отношению к исходному в процентах. Объем стопы определяли онкометрическим методом через 40 мин; 1,5; 3 и 4 ч после введения флоготических агентов (табл.8, 9). Полученные результаты представлены в табл.8.

Как показано в табл., испытуемое средство оказывало выраженное тормозящее влияние на течение серотонинового и гистаминового артрита.

**Табл.8**

**Влияние средства «Рухмин» на течение гистаминового артрита у белых крыс (n= 6)**

Группа животных и доза, мл/кг	Показатели прироста объема лапок, %			
	0,5 ч	1,5 ч	3 ч	4 ч
Контроль	42,6±1,6	81,5±2,6	68,0±4,8	46,6±2,6
Рухмин, 2мл/кг	33,0±0,8	39,0±1,0 P<0,001	34,2±2,6 P<0,001	22,4±0,9 P<0,001
Рухмин, 5мл/кг	36,0±1,4	40,0±2,6 P<0,05	32,0±1,8 P<0,05	21,3±1,0 P<0,05
Бутадион, 2мл/кг	42,0±1,8	47,0±2,9 P<0,05	38,0±4,1 P<0,05	26,1±2,1 P<0,05
Бутадион, 5мл/кг	40,0±1,2	30,0 ± 2,1 P<0,05	28,0 ± 3,2 P<0,05	25,0 ± 1,3 P<0,05

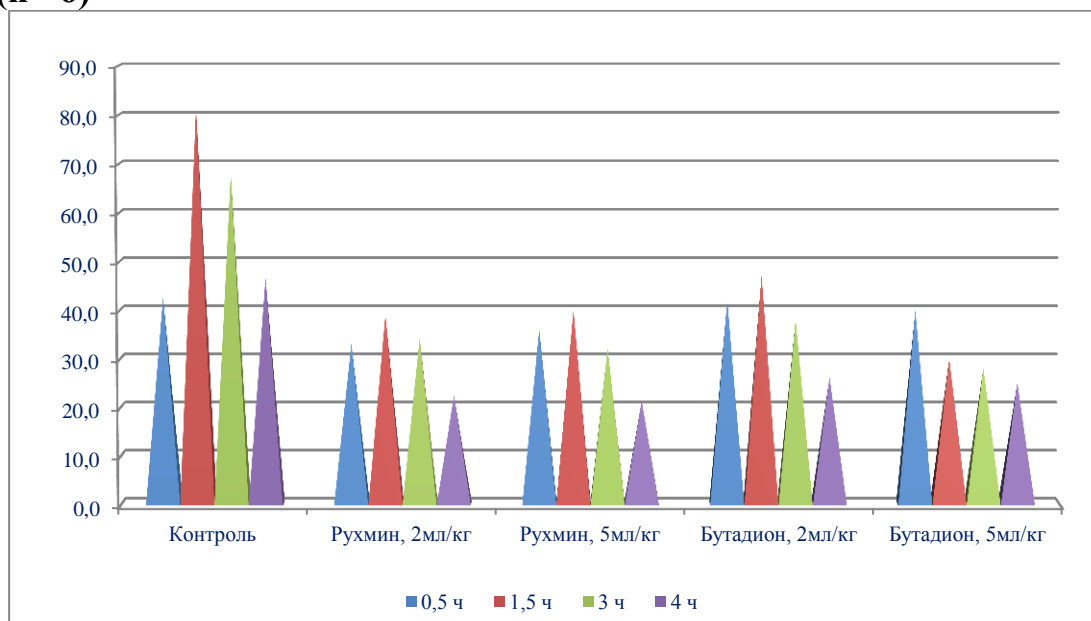
Примечание: Объем интактной лапки во всех группах принят за 100%

Наблюдение за динамикой обратного развития воспаления показало, что через 4 ч после введения гистамина объем воспаленного голеностопного сустава у крыс, получавших «Рухмин», было меньше в среднем на 53,5-46,3% (P<0,001) по сравнению с таковым у животных контрольной группы.

Полученные результаты представлены на слайде 5.

**Рисунок 5**

**Влияние средства «Рухмин» на течение гистаминового артрита у белых крыс (n= 6)**



При серотониновом отеке введение «Рухмина» также значительно уменьшало объем воспаленной лапки ( $P<0,001$ ). Было установлено, что при серотониновом артрите испытуемое вещество также оказывает положительное влияние на течение воспалительного процесса. Полученные экспериментальные результаты представлены в (табл. 9).

Табл. 9

**Влияние средства «Рухмин» на течение серотонинового артрита у белых крыс (n=8)**

Группа животных и доза, мл/кг	Показатели прироста объема лапок, %			
	0,5 ч	1,5 ч	3 ч	4 ч
Введение 0,1 мл 0,05% серотонина под апоневроз голеностопного сустава				
Контроль	72,3±3,0	116,2±8,7	83,0±5,2	70,7±6,9
Рухмин, 2мл/кг	59,0±3,6	83,0±3,6 $P<0,001$	44,0±2,1 $P<0,001$	38,0±1,6 $P<0,001$
Рухмин, 5мл/кг	51,0±2,4	71,0±4,5 $P<0,05$	33,0±3,1 $P<0,05$	29,0±2,8 $P<0,05$
Бутадион, 2мл/кг	35,2±1,6	6,7± 2,6 $P<0,05$	31,5± 2,8 $P<0,05$	28,9± 2,2 $P<0,05$
Бутадион, 5мл/кг	30,5±4,7	27,6±2,2 $P<0,05$	20,6±0,6 $P<0,05$	18,0±0,6 $P<0,05$

Примечание: Объем интактной лапки во всех группах принят за 100%.

Во все сроки исследования противовоспалительное действие бутадиона было более выраженным по сравнению с «Рухмином». Полученные нами результаты так же свидетельствуют о наличии выраженного ангиопротективного действия у испытуемого средства «Рухмин», проявляющегося в уменьшении проницаемости кожных и брюшных капилляров.

Влияние «Рухмина» на течение формалинового артрита было изучено на 42 белых крысах массой тела 200-220 г. Животные были распределены на 7 групп: 1 – контрольные животные, которым вводили под апоневроз голеностопного сустава 0,01 мл 2,5% раствора формалина; 2, 3, 4, 5 – животные, которым за 40 мин до введения формалина под апоневроз голеностопного сустава внутривенно вводили «Рухмин», разведенный в соотношении (1:10) в дозах 2мл/кг- 5мл/кг массы тела, а так же в таком же объеме вводили бутадион по вышеуказанной схеме. Всем опытным животным так же, как и животным контрольной группы вводили под апоневроз голеностопного сустава формалин. В первый день изучаемое вещество вводили в желудок двукратно за 40 мин до и через 8 ч после инъекции формалина, а затем ежедневно однократно в течение 5 сут. Подапоневрозное введение 2,5% раствора формалина вызывало более значительную воспалительную реакцию по сравнению с инъекциями гистамина и серотонина. Как видно из представленных данных, средство «Рухмин» значительно уменьшает отек воспаленных лапок крыс, обусловленный инъекцией формалина. Несколько более заметным было противовоспалительное действие по сравнению с изученным «Рухмином» у бутадиона. Однако низкая токсичность

и отсутствие побочных явлений у исследованного средства «Рухмин», по сравнению с бутадиионом и другими синтетическими противовоспалительными препаратами, делает его более перспективным при профилактике различных воспалительных процессов. Полученные нами результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о том, что средство «Рухмин», уменьшает проницаемость кожных капилляров и капилляров брюшины.

При артритах, обусловленных введением под апоневроз лапок крыс формалина, более выраженное противоотечное действие оказал бутадиион, но тем не менее, по праву можно сказать, что средство «Рухмин» так же обладает выраженным противовоспалительным действием. Следует отметить, что влияния бутадииона и исследованного «Рухмина» на течение воспалительных процессов, обусловленных воздействием гистамина и серотонина, было более выражено.

Действия «Рухмина» на тонус изолированного кишечника изучали на 200 отрезках подвздошной кишки кроликов. Ацетилхолин в разведениях 1:200000 вызывал спастическое сокращение тонкого кишечника. После добавления в ванночку ацетилхолина в указанном разведении высота амплитуды сокращения кишечника составляла  $164,0 \pm 4,41$  мм. Добавление раствора «Рухмина» в разведениях 1:100000 и 1:200000, на фоне ацетилхолинового спазма достоверно уменьшало амплитуду и продолжительность спазма кишки ( $P < 0,001-0,05$ ).  $BaCl_2$  в разведении 1:10000 вызывал выраженный спазмолитический эффект изолированных отрезков тонкого кишечника.

Результаты исследования приведены в табл.10.

**Табл.10**

**Влияние средства Рухмина на сокращения отрезка кишки крысы, обусловлено введением ацетилхолина и  $BaCl_2$  ( $n=8-10$ )  $M \pm m$ ;  $P < 0,001-0,05$**

Серия опытов, дозы препаратов	Исходный тонус кишки	Амплитуда сокращений в мм	Продолжительность спазма в сек.
Ацетилхолин 1:200000	$1,5 \pm 0,31$	$164,4 \pm 4,41$	$279,0 \pm 3,37$
Ацетилхолин 1:200000 + Рухмин (2мл/кг) - 1:100000	$1,45 \pm 0,21$	$106,0 \pm 3,44$ 0,05	$90,0 \pm 4,41$ 0,001
Ацетилхолин 1:200000 + Рухмин (5мл/кг) - 1:100000	$0,76 \pm 0,4$	$70,0 \pm 2,4$ 0,001	$59,0 \pm 0,9$ 0,001
$BaCl_2$ 1:10000	$1,3 \pm 0,3$	$102,0 \pm 3,18$ 0,001	$101,0 \pm 5,15$ 0,001
$BaCl_2$ 1:10000 + Рухмин (2мл/кг) 1:100000	$0,78 \pm 0,01$	$86,4 \pm 4,12$ 0,001	$99,0 \pm 4,4$ 0,001
$BaCl_2$ 1:10000 + Рухмин (5мл/кг) 1:100000	$1,0 \pm 0,11$	$72,3 \pm 3,8$ 0,001	$69,0 \pm 2,6$ 0,001

Учитывая, что основу средства «Рухмин» составляют пищевые продукты, используемые населением в питании в течение длительного времени, определение острой токсичности нами не проводилось. Исследование



безвредности «Рухмина» в условиях хронического (3мес) и (5мес.) эксперимента было проведено на 30 кроликах обоего пола массой 1,5-1,8 кг и белых крысах. Кролики были распределены на 3 группы: 1- здоровые, 2 и 3 – животные, получавшие «Рухмин» (предварительно разбавленный в дистиллированной воде в соотношении 1:10) в дозе 2мл/кг и 5мл/кг массы тела. «Рухмин» вводили внутривентрикулярно 1 раз в сутки в течение 3-х месяцев. Контрольные животные получали соответствующий объем растворителя. Животные получали водопроводную питьевую воду в неограниченном объеме. Кормление проводили два раза в сутки и одинаково для всех животных. В течение 3-х месяцев наблюдали за общим состоянием животных и их поведением, динамикой массы тела, двигательной активностью, состоянием слизистых оболочек полости рта и шерстного покрова. Наряду с вышеуказанными симптомами в течение указанного времени исследовали морфологический состав периферической крови, а также биохимические показатели состава сыворотки крови, гематологические показатели.

**Табл.11**

**Показатели выживаемости кроликов при трехмесячном внутривентрикулярном введении различных доз «Рухмина»**

Серия опытов и дозы в мл/кг массы	Количество животных в серии	Выжили	
		Выжили в абсолютном значении	В %
		Кролики	
Контрольные	10	10	100
Рухмин, 2мл/кг массы	10	10	100
Рухмин, 5мл/кг массы	10	10	100

Состояние антитоксической и экскреторной функции, мы определяли до начала введения испытуемого вещества (исходное), через 1 и 3 месяца в процессе ежедневного внутривентрикулярного введения Рухмина. (см. табл.11). Как явствует из таблицы внутривентрикулярное введение испытуемого вещества в дозах 2-5мл/кг массы тела в течении 3-х месяцев не вызывало летальных исходов у подопытных кроликов (табл. 11).

Наблюдения за животными на протяжении трех месяцев показали, что испытуемое средство в вышеуказанных дозах существенно не влияло на общее состояние и поведение кроликов. Животные, получавшие испытуемое средство «Рухмин» в течение 3-х месяцев, по внешнему виду не отличались от контрольных. Они имели гладкий шерстный покров, сохраняли обычную двигательную активность, охотно поедали корм. Стул у подопытных животных был характерный для грызунов, плотный гранулообразной формы.

У животных, получавших испытуемое средство в течении 3-х месяцев, прирост веса у опытных и контрольных во всех случаях был идентичным между собой. Влияние «Рухмина» на антитоксическую функцию печени в условиях

хронического опыта, оценивалось по продолжительности барбамилового сна (50 мг/кг массы в/б). Результаты проведенных экспериментов показывают, что внутрижелудочное введение испытуемого средства в вышеуказанных дозах в течение трех месяцев у кроликов не вызывает достоверных отличий по отношению к контрольным животным.

Влияние «Рухмина» на диурез при хроническом опыте изучалось на кроликах, где установлено, что испытуемое средство «Рухмин» при длительном введении не оказывает отрицательного влияния на процесс мочевыделения и не оказывает нефротоксического воздействия на мочевыделительную систему. Полученные результаты указывают на отсутствие гематотоксического эффекта испытуемого «Рухмина» при внутрижелудочном введении в течение трех месяцев. Как показали результаты биохимических анализов крови у подопытных животных, получавших испытуемое средство в дозах 2мл, 5мл/кг массы тела в течение трех месяцев, среднее количество эритроцитов, лейкоцитов и концентрация гемоглобина чаще всего были идентичными, либо незначительно повышенными по сравнению с контрольными животными. Концентрация общего белка, альбумина и сахара крови у подопытных крыс и кроликов были сопоставлены с показателями контрольной серии. Концентрация общего холестерина и триглицеридов в составе сыворотки крови после трехмесячного введения испытуемого средства в вышеуказанных дозах у подопытных крыс и кроликов по сравнению с контрольными животными оставались без существенных изменений, хотя наблюдалось незначительное снижение триглицеридов от введенного в дозах 2мл/кг и 5мл/кг массы тела и незначительное увеличение сахара по отношению к контрольным. По завершении хронического эксперимента проводили эвтаназию животных передозировкой диэтилового эфира в закрытой камере для патоморфологического исследования внутренних органов и тканей.

Таким образом, проведенные биохимические исследования свидетельствуют, о том, что исследуемые вещества оказывают положительное влияние в отношении общего белка, альбумина, холестерина, триглицеридов, и отрицательно на содержание сахара крови.

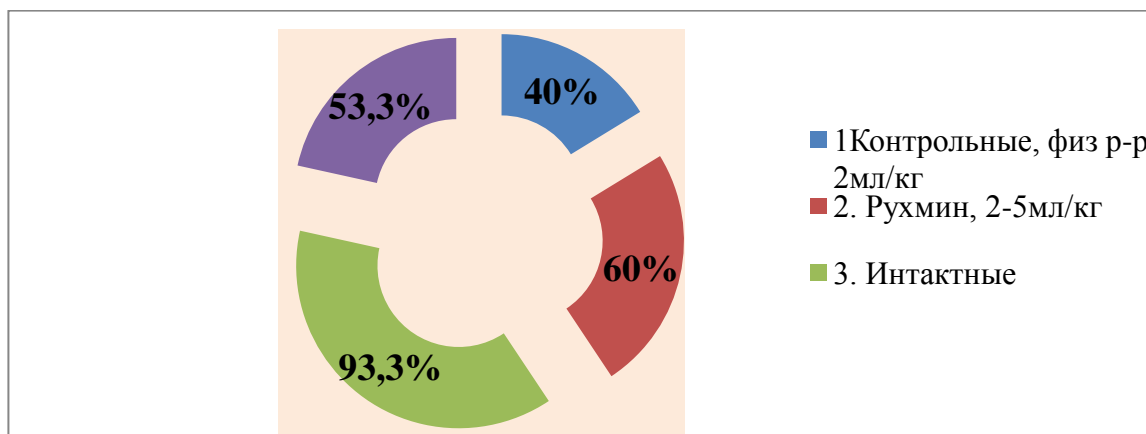
Многие лекарственные растения и плоды в том числе виноград, шелковица восточная хурма, обладают интерфероностимулирующим действием (Соловьев В.Д. и соавт., 1981; Корсун В.Ф. и др., 2005). Вышеуказанное плодово-ягодное сырьё является легко доступным и дешёвым природным средством для широкого круга больных, в то же время практически безвредным для организма. Создание безопасных интерфероностимулирующих фито-средств, способных заменить дорогостоящие лимфоцитарные и бактериальные интерфероны, считается перспективным и актуальным направлением для фармакологии XXI века (Нуралиев Ю.Н., Урунова М.В., 2005). Поиск интерфероностимулирующих средств и создание на их основе природных стимуляторов интерферона требуют крайне энергичных и скоординированных поисков с участием опытных ботаников, биологов, фитохимиков, и в частности фармакологов. Известно, что природные средства благодаря содержанию в них биологически активных

веществ как фенольные соединения, флавоноиды, эфирные масла, витамины, органические кислоты, макро- и микроэлементы проявляют достаточно активное гепатозащитное действие (Нуралиев Ю.Н., 1989, 1992; Кудрин А.Н., 1996; Соколов С.Я., 2003; Mills S. et al., 2000; Белоногова В.Д. и др., 2003; Hohwerda, 1982; Oh N., Kim D., 2004). Исходя из данной информации, нами целенаправленно было изучено гепатозащитное действие средства «Рухмин». В качестве подострого токсического гепатита была выбрана модель подострого поражения печени четырёх хлористым углеродом (CCl<sub>4</sub>), который считается сильным гепатотоксином (Арчаков А.И., 1978; Подымова С.Д., 1995; Trainger et al., 1973). В качестве препарата сравнения нами был выбран карсил, который широко используется в гепатологии. Карсил предохраняет в значительной степени печень от патологических изменений в структуре и энзиматической активности, обладает детоксическим действием и свойствами подобными рутину, оказывая специфический гепатопротективный эффект (Тютюлкова и соавт., 1982, 1985). О проявлении гепатозащитного действия изучаемого средства «Рухмин» судили по следующим показателям:

- по проценту выживаемости животных в опытных и контрольных сериях;
- по состоянию активности ферментобразовательной функции печени, и по показателям как АсАТ, АлАТ, ЩФ и 5-НТ в составе сыворотки крови;
- по показателям обмена общего белка, билирубина и холестерина в сыворотке крови;
- по некоторым показателям свертывающей системы крови (время рекальцификации, фибрин, фибриноген, протромбиновый индекс, протромбиновое время, тромбиновое время). При интоксикации CCl<sub>4</sub> в течение 1 месяца из числа контрольных (нелеченных) животных выжило лишь 40% (6 крыс). В группе, получавшей средство «Рухмин» (2 и 5 мл/кг массы) выжило 60,0% (9 из 15 крыс) по сравнению с контрольной серией, а у животных, получавших карсил (50 мг/кг массы) по той же схеме, выживаемость опытных животных составила 53,3% при подострой интоксикации печени CCl<sub>4</sub>

**Рисунок 6**

**Выживаемость белых крыс при экспериментальном подостром токсическом гепатите (CCl<sub>4</sub>)**



Таким образом, средство «Рухмин» предотвращало гибель животных при подостром токсическом гепатите, что свидетельствовало о проявлении гепатозащитного влияния. В процессе подострой интоксикации организма  $CCl_4$  возникали тяжелые нарушения со стороны ферменто-образовательной функции печени. У животных, не получавших средство «Рухмин» активность АлАТ повышалась на 35,5% ( $P < 0,001$ ), АсАТ - на 95,3% ( $P < 0,001$ ), ЩФ - на 49,4% ( $P < 0,001$ ) и активность 5-НТ - на 62,7% ( $P < 0,001$ ).

В результате проведенного эксперимента с помощью средства Рухмин (в дозе 5 мл/кг массы тела) в составе сыворотки крови опытных животных, уровень изучаемых ферментов, повышенный под действием  $CCl_4$ , снизился: АлАТ - на 34,1% ( $P < 0,001$ ), АсАТ- на 29,0% ( $P < 0,001$ ), ЩФ - на 22,6% ( $P < 0,05$ ), 5-НТ- на 28,0% ( $P < 0,05$ ). Под действием исследуемого средства «Рухмин», введенного по той же схеме в дозе 2 мл/кг массы тела, также были получены статистически достоверные положительные результаты по всем изучаемым параметрам. Уровень АлАТ снизился в среднем на 32,6%, АсАТ на 31,4%, ЩФ на 21,4% и 5- НТ на 22,5%. Обсуждение полученных результатов более подробно представлено в диссертации. Карсил, вводимый по той же схеме в дозе 50 мг/кг массы тела в течение 30 суток, также вызывал заметное снижение уровня изучаемых ферментов. Уровень АлАТ снизился в среднем на 36,2% ( $P < 0,02$ ), АсАТ на 26,3% ( $P < 0,02$ ), ЩФ на 22,9% ( $P < 0,01$ ) и 5- НТ на 29,0% ( $P < 0,01$ ). Подострая интоксикация животных  $CCl_4$  вызывала повышение содержания билирубина и заметное снижение уровня холестерина в составе сыворотки крови контрольных крыс. У опытных крыс, получавших средство «Рухмин» в дозах 2 и 5 мл/кг массы тела в течение 30 дней, содержание билирубина соответственно, снижалось на 21,3% и 19,6%, а пониженный уровень холестерина восстанавливался от 5,4% до 23,5%; содержание В-липопротеидов снижалось в среднем от 0,5% до 15,0%. У опытных крыс, пролеченных препаратом карсил в дозе 50 мг/кг массы по той же схеме, содержание билирубина, соответственно, снижалось на 28,2%, уровень холестерина восстановился до 17,1%. Показатель общего белка в сыворотке крови во всех сериях почти не отличался от контроля. Характер влияния средства «Рухмин» в отношении свертывающей системы при подостром интоксикационном гепатите ( $CCl_4$ ) оценивали по таким показателям как время рекальцификации (в сек), по уровню фибрина (в мг%), фибриногена (г/л), по показателям протромбинового индекса (г%), протромбинового и тромбинового времени (в сек). У контрольных животных с подострым токсическим гепатитом ( $CCl_4$ ) время рекальцификации укорачивалось на 21,6 % ( $P < 0,5$ ), уровень фибрина повышался в среднем на 30,6% ( $P < 0,05$ ), а уровень фибриногена соответственно на 107% ( $P < 0,01$ ), протромбиновый индекс снижался лишь на 1,6%, протромбиновое время укорачивалось на 2,0%. Показатель тромбинового времени в данной серии был почти идентичным с показателями интактной серии. У опытных животных, получавших внутрижелудочно средство «Рухмин» по 2 мл/кг массы тела при подостром гепатите отмечалось снижение времени рекальцификации на 39,3% ( $P < 0,05$ ). Концентрация фибрина у животных данной серии была снижена на 12,5% ( $P < 0,05$ ), а содержание фибриногена соответственно снижалось на 72,2% ( $P < 0,05$ ),

протромбиновый индекс и протромбиновое время лишь на 0,9% ( $P < 0,4$ ) и снижение тромбинового времени - на 3,1% ( $P < 0,1$ ).

У животных, получавших по той же схеме средство «Рухмин» в дозе 5 мл/кг массы тела при подостром поражении печени были получены следующие результаты: время рекальцификации снижалось на 39,8,0% ( $P < 0,05$ ), уровень фибрина снижался на 1,4% ( $P < 0,05$ ), фибриноген - на 59,7% ( $P < 0,05$ ). Протромбиновый индекс снижался соответственно на 2,0% ( $P < 0,5$ ), а протромбиновое время повышалось недостоверно на 2,1% и тромбиновое время снижалось на 0,8% ( $P > 0,2$ ). Проявление активного гепатозащитного влияния средства «Рухмин», на наш взгляд, возможно, связано с его способностью корректировать возникающие под действием гепатотоксина  $CCl_4$  нарушения внутриклеточных анаболических процессов. Ведущую роль в механизме данного эффекта по нашему мнению играет его интерферон стимулирующее влияние, а также наличие жизненно важных микроэлементов цинка, меди и других.

### **ВЫВОДЫ:**

1. Дана фармакологическая характеристика средству «Рухмин», полученное по на основе плодов и ягод (винограда, восточной хурмы и шелковицы) произрастающих в Таджикистане.
2. Средство «Рухмин», содержащее в своем составе ряд биоактивных веществ и микроэлементов (цинк, медь, йод и др.) проявляет гепатозащитное, противовоспалительное и адаптогенное свойства при экспериментально вызванных артритах и гепатите;
3. БАД "Рухмин" является малотоксичным, экономически рентабельным и доступным средством. Внутрижелудочное введение препарата в течение 3- 5 месяцев не оказывало токсического воздействия на гепатобилиарную, нейроэндокринную, сердечно-сосудистую, кроветворную и пищеварительную системы;
4. Полученными экспериментальными данными, обоснованы показания к применению БАДа «Рухмин» в качестве вспомогательного защитно-адаптогенного, противовоспалительного, гепатозащитного средства для комплексной терапии, при недостатке жизненно важных витаминов и микроэлементов. Внедрение средства «Рухмин» в практическую медицину будет иметь важное социально-экономическое значение для оздоровления населения Таджикистана;
5. Полученные в ходе экспериментального исследования результаты по изучению БАДа "Рухмин", можно будет использовать для проведения клинических испытаний, в качестве витаминизированного, общеукрепляющего средства при различных видах заболеваний, после разрешения фармакологического комитета Министерства Здравоохранения РТ.

### **Научно – практические рекомендации**

1. Биоактивную пищевую добавку «Рухмин», полученную на основе экологически чистого фруктово - ягодного сырья, можно рекомендовать в качестве профилактического витаминизированного средства при различных видах заболеваний;
2. Результаты проведенных фармакологических исследований позволяют рекомендовать средство «Рухмин», как вспомогательную пищевую добавку при лечении воспалительных и адаптогенных нарушений организма.

### **Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях**

1. Петенг де Вогренанде Кюньяк Д.Т.  
Средство «Рухмин», обладающее адаптогенным и общеукрепляющим свойствами / Петенг де Вогренан де Кюньяк Д.Т., Курбанов М.К., Саидов А. А., Джураев Х. Ш., Азонов Д.А.// Малый патент №Тj 420 от 15.12.2010г.
2. Петенг де Вогренан де Кюньяк Д.Т.  
Адаптогенные свойства средства «Рухмин»/ Петенг де Вогренан де Кюньяк Д.Т., Курбанов М.К., Саидов А. А., Джураев Х. Ш., Азонов Д.А.// Доклады Академии наук Республики Таджикистан. - 2011г, - т.53, -№3, - С. 46-48
3. Петенг де Вогренан де Кюньяк Д.Т.  
Разработка технологии получения средства «Рухмин», как источника жизненно важных микроэлементов и витаминов/ Петенг де Вогренан де Кюньяк Д.Т., Курбанов М.К., Саидов А. А., Джураев Х. Ш. //Здравоохранение Таджикистана. - 2011г. - №4. - С.24-27
4. Петенг де Вогренан де Кюньяк Д.Т., Изучение острой токсичности средства «Рухмин» НИИ Центр депонирования №12 (1693) от ( 12 03 2012г).

Типография ТГМУ им. Абу Али Ибни Сино  
Подписано к печати 17 апреля 2012г. формат 60/841/16  
Бумага офсетная 80м<sup>2</sup>  
Объем 1,5 п.л. тираж 100. Заказ № 25