

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ИММУНОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ГЕПАЛИПИНА – ФИТОКОМПОЗИЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ, ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ, ЭКДИСТЕРОНА И ЛИКОПИНА В НОРМЕ И ПРИ ВТОРИЧНОМ ИММУНОДЕФИЦИТНОМ СОСТОЯНИИ У МЫШЕЙ С CCL4-ГЕПАТИТОМ В СРАВНЕНИИ С ФОСФОГЛИВОМ

Сыров В.Н., Эгамова Ф.Р., Гусакова С.Д., Сагдуллаев Ш.Ш.

Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз

ХУЛОСА

Тадқиқотда Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси ЎМКИ ишлаб чиқилган эссенциал фосфолипидлар, глицирризин кислотаси, экдистерон ва ликопиндан ташкил топган фитокомпозиция – гепалипин ҳамда фосфогливининг ҳайвонларда CCL4-гепатити ривожланиши даврида нормал ва иккиламчи иммунитет танқислиги шароитида иммунитет ҳолатига таъсири ўрганилди.

Тадқиқот мақсади. CCL4-гепатотоксик заҳарни юбориш натижасида ривожланган гепатитда нормал ҳайвонлар ва иккиламчи иммунитет танқислиги ҳолати бўлган ҳайвонларда гепалипиннинг (фосфогливин билан солиштирганда) иммунотроп таъсири аниқлаш.

Материал ва усуллар. Тажрибалар 21-22 г. оғирликдаги оқ эркак сичқонларда ўтказилди. Нормал ҳайвонларга қўй эритроцитлари эмланиши билан бир вақтда гепалипин ва фосфогливин берилди. CCL4 –гепатитли ҳайвонларга (3 кун давомида 0,2 мл дан CCL4 нинг 20%ли ёғли эритмасини тери остига юбориш натижасида чақирилган) токсикант инъекциясининг охири кунда препаратлар, ўша кун сичқонлар қўй эритроцитлари билан ҳам эмланган (иккала ҳолатда ҳам қорин бўшлиғига ҳар бир сичқон учун 2×10^8 ҳужайра дозада юборилди). 5чи кун сичқонлар декапитация қилинди ва тананинг иммун реактивлиги ҳолати талоқда N.K. Jerne, A.A. Nordin (1963) усули билан ҳосил бўлган антитана ҳосил қилувчи ҳужайралар (АХҚХ) сони бўйича баҳоланди. Бундан ташқари, марказий (тимус, суяк илиги) ва периферик (талоқ, лимфа туғунлари) иммунитет органларидаги ҳужайраларнинг умумий сони ҳисоблаб чиқилди. Гепалипин ва фосфогливин препаратлари 50 мг/кг дозада оғиз орқали юборилди.

Натижалар. Гепалипин, қўй эритроцитлари эмлаш билан бир вақтда сичқонларга юборилганда, бирламчи АХҚХ ҳосил бўлиш жараёнини рағбатлантиради, талоқдаги антитана ҳосил қилувчи ҳужайралар сонини сезиларли даражада оширади. Унинг таъсири остида иммунитет тизимининг марказий ва периферик органларининг ҳужайравий имкониятлари ҳам сезиларли даражада ошади. Гепалипиннинг

SUMMARY

The paper studied the effect of hepalipin, a phyto-composition consisting of essential phospholipids, glycyrrhizic acid ecdysterone and lycopene, developed in the ICPS of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, and phosphogliv on the immune status in normal and secondary immunodeficiency in animals developing during the reproduction of CCL4-hepatitis in them.

The aim of the study. To determine the presence and severity of hepalipin (compared with phosphogliv) immunotropic effect in normal animals and animals with a secondary immunodeficiency condition developing as a result of the administration of hepatotoxic venom - CCL4.

Materials and methods. The experiments were performed on white male mice weighing 21-22 g. Normal animals were given hepalipin and phosphogliv once simultaneously with immunization with sheep erythrocytes. Animals with CCL4 (caused by subcutaneous injection of 20% CCL4 oil solution of 0.2 ml for 3 days) were injected with drugs on the last day of the toxicant injection, on the same day mice were also immunized with sheep erythrocytes (in both cases intraperitoneally at a dose of 2×10^8 cells per mouse). On day 5, mice were slaughtered and the state of the body's immune reactivity was judged by the number of antibody-forming cells (AFC) formed in the spleen by the method of N.K. Jerne, A.A. Nordin (1963). In addition, the total number of cells in the central (thymus, bone marrow) and peripheral (spleen, mesenteric lymph nodes) immune organs was calculated. Hepalipin and the reference drug phosphogliv were administered orally at a dose of 50 mg/kg.

Results. Hepalipin, when administered to mice simultaneously with immunization with sheep erythrocytes, stimulates the process of primary antibody formation, significantly increased the number of antibody-forming cells in the spleen. Under its influence, the cellular capacity of the central and peripheral organs of the immune system will also noticeably increase. The immunostimulating effect of hepalipin is also quite clearly manifested in experiments on animals with secondary immunodeficiency, which develops after the reproduction of acute CCL4 hepatitis in animals. In all the experiments

иммунстимулятори таъсири ҳайвонларда ўткир СС14- гепатитдан кейин ривожланидиган иккитамли иммунитет танқислиги бўлган ҳайвонларда ўтказилган таърибаларда ҳам аниқ намоён бўлди. Ўтказилган барча таърибаларда гепалипин фосфолипидга қараганда иммунстимулятори фаоллигида аниқроқ таъсир кўрсатади.

Хулоса. Фитокомпозиция- гепалипин СС14 билан қақирилган ўткир токсик гепатит фонидида иккитамли иммунитет танқислиги ҳолатини ривожланишида потенциал иммунстимулятори восита сифатида катта қизиқиш уйғотади. Шу сабабли гепалипинни қўллаш фосфолипид қўллашдан кўра аниқроқ таъсир кўрсатади.

Калим сўзлар: гепалипин (эссенциал фосфолипидлар, глицирризин кислота, экдистерон ва ликопиндан иборат фитокомпозиция), фосфолипид, иммунстимулятори таъсир.

Заболевания гепатобилиарной системы часто сопровождаются развитием вторичного иммунодефицитного состояния. Поэтому, оценивая гепатопротекторную эффективность вновь тестируемых в этом отношении веществ, важно иметь представление об их влиянии на иммунные процессы в организме. В последние годы в ИХРВ АН РУз был разработан комбинированный препарат, состоящий из соевых фосфолипидов (основной компонент фосфатидилхолин 78-80%), глицирризиновой кислоты чистотой не менее 80%, фитоэкдистероида экдистерона и жирорастворимого каротиноида ликопина [2]. Под условным названием «Гепалипин» в экспериментальных исследованиях он показал себя высокоактивным гепатопротекторным средством, превосходящим по активности известный лекарственный препарат соответствующего типа действия «Фосфолипид» [4]. Фосфолипид в отличие гепалипина содержит только фосфатидилхолин из соевых бобов и тринатриевую соль глицирризиновой кислоты [1] (производитель ОАО «Фармстандарт – Лексредства, Россия»). В настоящей работе проводятся данные, полученные при изучении иммуномодулирующего действия гепалипина в сравнении с фосфолипидом у нормальных животных, а также у животных с вторичным иммунодефицитным состоянием, развивающимся у них после воспроизведения токсичного гепатита, вызванного четыреххлористым углеродом.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить наличие и выраженность у гепалипина (сравнительно с фосфолипидом) иммуностимулирующего действия у нормальных животных и животных с вторичным иммунодефицитным состоянием, развивающимся вследствие введения им гепатотоксического яда - СС14.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В опытах использовали беспородных белых мышей самцов, массой 21-22г. Нормальным животным гепалипин и фосфолипид вводили однократно одно-

кратно, гепалипин показал более выраженное действие в его иммуностимулирующей активности по сравнению с фосфолипидом.

Conclusion. Phytocomposition – hepalipin is of significant interest as a potential immunostimulating agent in the development of a secondary immunodeficiency condition against the background of acute toxic hepatitis caused by CCl4. In this regard, the use of hepalipin gives a more pronounced effect than the use of phosphogliv.

Keywords: hepalipin (a phytocomposition consisting of essential phospholipids, glycyrrhizic acid, ecdysterone and lycopene), phosphogliv, immunostimulating effect.

временно с иммунизацией их эритроцитами барана. Животным с острым токсическим гепатитом – вызывали подкожным введением в течение 3-х дней 20% масляного раствора СС14 по 0.2 мл (Р.В. Петров и др., 1984) препараты вводили в последний день инъекции токсиканта, в этот же день мышам также иммунизировали эритроцитами барана (в обоих случаях внутривенно в дозе 2×10^8 клетках на мышь). На 5-е сутки мышам забивали мгновенной декапитацией. О состоянии иммунной реактивности организма судили по числу образующихся антителообразующих клеток (АОК) в селезенке иммунизированных мышам прямым методом локального гемолиза в геле (N.K. Jerne, A.A. Nordin, 1963). Помимо этого, подсчитывали общее число ядросодержащих клеток селезенки (ЯКСК) и исходя из этого делали расчет содержания АОК на 1 млн спленоцитов. В этих же экспериментах подсчитывали общее количество клеток в тимусе, костном мозге (использовали бедренную кость) и брыжеечных лимфатических узлах. Гепалипин и фосфолипид вводили мышам в дозе 50 мг/кг перорально. Содержание животных и все манипуляции с ними проводили в соответствии с общепринятыми стандартами обращения с лабораторными животными (Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях) и одобренными Комиссией по биомедицинской этике ИХРВ АН РУз.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенных исследованиях прежде всего было выявлено достаточно выраженное иммуностимулирующее действие гепалипина в опытах на нормальных животных. Под его влиянием наблюдалось заметное усиление процесса первичного антителообразования, о чём свидетельствовало повышение количества АОК в селезенке, секретирующих IgM в ответ на иммунизацию эритроцитами барана. Это видно и при расчете количества АОК на всю селезенку

(увеличение в 3.8 раза) и на 1 млн спленоцитов (увеличение в 2.6 раза). Из других выявленных фактов первичной оценки иммунобиологических свойств гепалипина следует отметить повышение под его влияние клеточности центральных (тимус, костный мозг) и периферических (селезенка, брыжеечные лимфатические узлы) органов иммунитета. Общая клеточность тимуса и костного мозга увеличивалась на 113.3 и 153.7%, а селезенки и брыжеечных лимфатических узлов на 43.7 и 140.9%. Используемый в про-

водимых экспериментах референс-препарат, применяющийся при лечении гепатитов – фосфоглив (В.Ф. Учайкин и др., 2000), увеличивал количества АОК (на всю селезенку) в 2.1 раза, а на 1 млн спленоцитов только на 61.4%. Также заметно слабее изменялась клеточность тимуса – возрастала на 39.9%, костного мозга на 64.8%, селезенки – на 31.2% и брыжеечных лимфатических узлов на 82.9%. Практически во всех случаях иммуностимулирующий эффект гепалипина был достоверно выше, чем фосфоглива (табл. 1).

Таблица 1

Влияние гепалипина и фосфоглива на показатели состояния иммунной системы нормальных мышей при их иммунизации эритроцитами барана ($M \pm m$, $n=10$)

| Условия эксперимента | Количество ядродержащих клеток селезенки $\times 10^6$ | Количество АОК | | Количество клеток тимуса $\times 10^6$ | Количество клеток костного мозга $\times 10^6$ | Количество клеток брыжеечных лимфатических узлов $\times 10^6$ |
|----------------------|--|--------------------|----------------------|--|--|--|
| | | на селезенку | на 1 млн спленоцитов | | | |
| Контроль | 192 \pm 15,4 | 4800 \pm 316 | 24,9 \pm 2,4 | 34,6 \pm 1,8 | 10,8 \pm 0,8 | 17,6 \pm 1,6 |
| Гепалипин | 276 \pm 22,4* | 18280 \pm 644*,1 | 66,2 \pm 4,6*,1 | 73,8 \pm 4,6*,1 | 27,4 \pm 2,6*,1 | 42,4 \pm 3,6*,1 |
| Фосфоглив | 252 \pm 20,4* | 10130 \pm 482* | 40,2 \pm 3,8* | 48,4 \pm 3,2* | 17,8 \pm 1,8* | 32,2 \pm 3,2* |

Примечание. *—Достоверно к показателям контроля, 1-достоверно между группами животных, получавших гепалипин и фосфоглив ($p < 0.05$).

Аналогичная картина наблюдалась и при сравнении действия гепалипина и фосфоглива на иммунную систему у мышей в условиях развития вторичного иммунодефицитного состояния вследствие введения им СС14. В этом случае в проведенных экспериментах количество АОК в селезенке уменьшалось на 87.2%, количество ЯСКС понижалось на 39.1% (при пересчете количества АОК на 1 млн спленоцитов) уменьшение составляло 78.9%. Крайне глубокие изменения отмечались и в общей клеточности тимуса (уменьшалась на 53.1%), костного мозга (уменьшалась на 50.0%), и брыжеечных лимфатических узлов (уменьшалась на 43.1%). Именно в этих условиях гепалипин, аналогично фосфогливу, но в значительно более выраженной степени проявил отчетливую

тенденцию к восстановлению всех исследуемых показателей. Число АОК в селезенке под влиянием препаратов возрастанию по отношению к этому показателю у животных с вторичным иммунодефицитным состоянием, развивающимся на фоне СС14-гепатита, в 7.6 раз и 4.7 раза соответственно (в пересчете на 1 млн спленоцитов это увеличение составляло 214.6 и 128.9%). В центральных и периферических органах иммунитета клеточность органов возрастала под действием гепалипина и фосфоглива: в тимусе на 105.3 и 48.7%, в костном мозге на 95.8 и 25.0%, в селезенке на 142.8 и 105.4%, в брыжеечных лимфатических узлах на 73.5 и 36.7%. Разница в эффекте между гепалипином и фосфогливом во всех случаях была достоверной (табл. 2).

Таблица 2

Реакция иммунной системы мышей с развившимся острым токсическим гепатитом на иммунизацию их эритроцитами барана и введение гепалипина и фосфоглива ($M \pm m$, $n=10$)

| Условия эксперимента | Количество ядродержащих клеток селезенки $\times 10^6$ | Количество АОК | | Количество клеток тимуса $\times 10^6$ | Количество клеток костного мозга $\times 10^6$ | Количество клеток брыжеечных лимфатических узлов $\times 10^6$ |
|----------------------|--|-------------------|----------------------|--|--|--|
| | | на селезенку | на 1 млн спленоцитов | | | |
| Контроль | 184 \pm 14,8 | 5300 \pm 86,4 | 28,8 \pm 3,2 | 32,4 \pm 2,6 | 9,6 \pm 0,6 | 17,2 \pm 1,4 |
| Гепатит | 112 \pm 13,2* | 680 \pm 86,4* | 6,07 \pm 0,8* | 15,2 \pm 1,2* | 4,8 \pm 0,4* | 9,8 \pm 0,6* |
| Гепатит +гепалипин | 272 \pm 15,8*,1,2 | 5200 \pm 2161,2 | 19,1 \pm 1,4*,1,2 | 31,2 \pm 2,21,2 | 9,4 \pm 0,81,2 | 17,0 \pm 1,21,2 |
| Гепатит +фосфоглив | 230 \pm 11,6*,1 | 3200 \pm 116*,1 | 13,9 \pm 1,2*,1 | 22,6 \pm 1,4*,1 | 6,0 \pm 0,3*,1 | 13,4 \pm 0,8* |

Примечание. *—Достоверно к показателям контроля, 1-достоверно к показателям животных с гепатитом, 2-достоверно между группами животных, получавших гепалипин и фосфоглив ($p < 0.05$).

Столь выраженное стимулирующее действие гепалипина по сравнению с фосфогливом, по-видимому, связано с наличием в данной фитокомпозиции, как уже отмечалось, экидистерона. Его выражение иммуностимулирующее действие ранее было показано

и в экспериментальных условиях [5] и при использовании (в виде лекарственного препарата экидистена) в клинике при вирусном гепатите В [3].

ВЫВОД

Гепалипин-фитокомпозиция состоящая из эссен-

циальных фосфолипидов, глицирризиновой кислоты, экидистерона и ликопина в опытах на нормальных мышцах и мышцах с вторичным иммунодефицитным состоянием, развивающимся при гепатите, вызванным четыреххлористым углеродом, оказывает иммуностимулирующее действие, превосходящее по своей выраженности эффект известного гепатопротекторного средства фосфоглива.

ЛИТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: РИА «Новая волна». – 2008. – С. 522.
2. Сагдуллаев Ш.Ш., Турсунова Н.В., Гусакова С.Д., Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Иноятова Ф.И., Арипов А.Н., Иногамова Г.З. Фармацевтическая композиция с гепатопротекторными свойствами // Патент РУз – UZ IAP 05701, Бюл. №12 (2018).
3. Сыров В.Н., Хушбактова З.А., Комарин А.С., Абидов А.Б., Печеницына Т.В., Арипходжаева Ф.А. Экспериментально-клиническая оценка эффективности применения экидистена при лечении гепатита // Эксперим. и клин. фармакол. – 2004. – №5. – С. 56-59.
4. Сыров В.Н., Гусакова С.Д., Хушбактова З.А., Эгамова Ф.Р., Хидоятова Ш.К., Сагдуллаев Ш.Ш. Гепатозащитная эффективность новой фитоконпозиции из эссенциальных фосфолипидов с глицирризиновой кислотой, экидистероном и ликопином при экспериментальном хроническом гепатите сравнительно с фосфогливом // Хим.-фарм. журн. – 2022. – Т.56, №11. – С. 30-35.
5. Шахмурова Г.А., Сыров В.Н., Батырбеков А.А. Иммунобиологические свойства фитоэкидистероидов. - Т.: “Fan va texnologiya”. – 2016. – С.176.

УДК: 615.212 : 615.273.53 664.48 :547.918+547.582.2 - 07

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСА АСК С МОНОАММОНИЕВОЙ СОЛЬЮ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Хамдамова Н.А., Выпова Н.А., Кузиев Ш.Н., Умарова Г.Б., Юнусова М.Х., Мухамаджонова Г.М., Хамроев С.Х., Уринов С.Д., Ялалова И.Р., Далимова С.Н.
Национальный университет Узбекистана им.Мирзо Улугбека,
Институт биоорганической химии АН РУз

ХУЛОСА

Тадқиқотнинг мақсади. Ацетилсалицил кислота (АСК) ва глицирризин кислотанинг моноаммоний тузи асосида синтезланган супрамолекуляр комплекс ГЛАСнинг антитромбоген таъсирини экспериментал ўрганиши.

Материаллар ва усуллар: тадқиқотда 60 та оқ наслсиз сичқонлардан фойдаланилди. DiMinnoG методи бўйича коллаген/адреналин аралашмаси таъсирида ҳосил бўлган ўпка тромбози модели ҳайвонларга ГЛАС ва солиштирувчи препаратлар – глицирам ва кардиомагнил таъсири *in vivo* ва *ex vivo* таърибларда тадқиқ этилди. ГЛАС препарати ва солиштирувчи препаратларнинг антитромботик фаоллиги спектрофотометрик усул ёрдамида аниқланди. Ўрганилган препаратларнинг қон плазмаси кўрсаткичларига таъсири CYPRESS DIAGNOSTICS фирманинг (Бельгия) маҳсус реактивлар йиғиндиси ёрдамида аниқланди

Натижалар: *in vivo* ва *ex vivo* таърибларда ўпка тромбозли модел ҳайвонларга ГЛАСнинг перорал юборилиши натижасида ҳосил бўлган тромб катталиги, солиштирувчи препаратларга нисбатан сезиларли даражада пасайиши қайд этилди. ГЛАСнинг 5 мг/кг дозаси таъсирида ҳосил бўлган

SUMMARY

The aim of the study. Experimental study of the antithrombotic effect of GLAS, a supramolecular complex synthesized on the basis of acetylsalicylic acid (ASA) and glycyrrhizic acid monoammonium salt.

Materials and methods: 60 white outbred mice were used in the study. The influence of GLAS and comparison drugs - glycyram and cardiomagnyl on the process of thrombus formation was studied. An experimental model of pulmonary thrombosis was created using the Di Minno G method by introducing a collagen/adrenal mixture (0.5 mg/kg and 0.06 mg/kg, respectively) into the tail vein of mice. In *in vivo* and *ex vivo* experiments, the antithrombotic activity of the drugs was determined using a spectrophotometric method. Using a special set of reagents from CYPRESS DIAGNOSTICS (Belgium), the effect of the studied drugs on blood plasma parameters was studied.

Results: in *in vivo* and *ex vivo* experiments, with oral administration of GLAS to model animals with pulmonary thrombosis, a significant decrease in thrombus size was noted compared to comparison drugs. A 61% reduction in thrombus weight was observed at a GLAS dose of 5 mg/kg. It has been shown that GLAS has a pronounced anticoagulant effect compared to glycyram and