

**BIOORGANIK KIMYO INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR  
BERUVCHI DSc.02/30.12.2019.K/B.37.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

---

**BIOORGANIK KIMYO INSTITUTI**

**MAXMUDOV LAZIZBEK UMARJONOVICH**

**SUPRAMOLEKUYAR KOMPLEKSLAR ASOSIDA OLINGAN YANGI  
PAST DOZALI PREPARATLARNING BIOLOGIK VA FARMAKOLOGIK  
XOSSALARI**

**02.00.10 - Bioorganik kimyo**

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)  
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

**Toshkent – 2024**

**Biologiya fanlari bo'yicha Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi  
avtoreferati mundarijasi**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD) по  
биологическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)  
on biological sciences**

**Maxmudov Lazizbek Umarjonovich**

Supramolekulyar komplekslar asosida olingan yangi past dozali preparatlarning biologik va farmakologik xossalari..... 3

**Махмудов Лазизбек Умаржонович**

Биологические и фармакологические свойства низкодозовых препаратов, полученных на основе супрамолекулярных комплексов... 21

**Makhmudov Lazizbek Umarjonovich**

Biological and pharmacological properties of low-dose drugs obtained on the basis of supramolecular complexes..... 41

**E'lon qilingan ishlar ro'yxati**

Список опубликованных работ

List of published works..... 45

**BIOORGANIK KIMYO INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR  
BERUVCHI DSc.02/30.12.2019.K/B.37.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

---

**BIOORGANIK KIMYO INSTITUTI**

**MAXMUDOV LAZIZBEK UMARJONOVICH**

**SUPRAMOLEKUYAR KOMPLEKSLAR ASOSIDA OLINGAN YANGI  
PAST DOZALI PREPARATLARNING BIOLOGIK VA FARMAKOLOGIK  
XOSSALARI**

**02.00.10 – Bioorganik kimyo**

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)  
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

**Toshkent - 2024**

**Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B 2021.2.PhD/B590 raqam bilan ro'yxatga olingan**

Dissertatsiya Bioorganik kimyo institutida bajarilgan.  
Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume)) Ilmiy kengash veb-sahifasida ([www.biochem.uz](http://www.biochem.uz)) va «ZiyoNet» Axborot ta'lim portaliga ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)) joylashtirilgan

**Ilmiy rahbar:** Tagayaliyeva Nigora Abdunabiyevna  
biologiya fanlari nomzodi, k.i.x.

**Rasmiy opponentlar:** Yuldashev Nasirdjan Muxamedjanovich  
biologiya fanlari doktori, professor  
Abdulladjanova Nodira Gulyamjonovna  
kimyo fanlari doktori, professor

**Yetakchi tashkilot:** Andijon Davlat Universiteti.

Dissertatsiya himoyasi Bioorganik kimyo instituti huzuridagi DS.02/30.12.2019.K/B.37/01 raqamli Ilmiy kengashning « 19 » NOVABR 2024yilda soat 14.00 dagi majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 100125, g. Toshkent, Mirzo Ulug'bek ko'chasi, 83. Tel.: 262-35-40, faks: (99871) 262-70-63.

Dissertatsiya bilan Bioorganik kimyo institutining Axborot resurs markazida tanishish mumkin (№ 259 raqam ostida ro'yxatga olingan). (Manzil: 100125, g. Toshkent, Mirzo Ulug'bek ko'chasi, 83. Tel.: 262-35-40, faks: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha@mail.ru.

Dissertatsiya avtoreferati: « 12 » 2024 yil NOVABR kuni tarqatildi.  
(№ « 1 » 12 NOVABR 2024 yildagi reestr bayonnomasi).



**Sh.I. Salixov**  
Ilmiy darajalar beruvchi  
ilmiy kengash raisi, b.f.d., akademik

**N.R.Xashimova**  
Ilmiy darajalar beruvchi  
ilmiy kengashilmiy kotibi, b.f.d.

**M.B. Gafurov**  
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash qoshidagi  
ilmiy seminar raisi, k.f.d professor

## **KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiya annotatsiyasi)**

**Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zaruriyati.** Dunyoda jigarning surunkali diffuz kasalliklari o'zining keng tarqalganligi, ularni jiddiy asoratlarning (sirroz, saraton) dunyo hamjamiyati va butun dunyo sog'liqni saqlashda markaziy muammolardan biri bo'lib qolmoqda. Jigardagi patologik jarayonlarning sababchisi viruslar, ekzogen zaharli moddalar (alkogol, dori preparatlari, ksenobiotiklar), immunitet holatining buzilishi, metabolik jarayonlar, aholi jismoniy faolligining pasayishi, betartib ovqatlanish, shunidek genetik omillardir. Hozirgi kunda dori vositalarini biologik o'zlashtirilishi yuqori bo'lgan, uzoq muddatli ta'sir ko'rsatadigan, past dozali va kam zaharli, target mexanizmli dori vositalarini yaratish katta amaliy ahamiyatga ega.

Jahonda bugungi kunda turli tabiatdagi nanozarralar shaklida dorilarini yetkazib berish tizimidan foydalanadigan nanofarmakologiyaga oid tadqiqotlar olib borilmoqda. Bu borada turli xil etiologiyali jigar kasalliklarini davolash uchun yangi, o'ziga xos dori vositalarini ishlab chiqish viruslarga qarshi, detoksifikatsiya, immunotrop, gepatoprotektor ta'sirlarga ega biologik faol moddalarni ("mehmon molekulalar") tashuvchisi ("mezbonlar") bilan komplekslarini olish va turli kasalliklarni davolash uchun samarali dori preparatlarini yaratishga alohida e'tibor berilmogda.

Respublikamizda iqtisodiy qulaylikni ta'minlovchi mahalliy o'simlik xom ashyosi asosida dori vositalarini ishlab chiqishga va aholini sifatli dori-darmonlar bilan ta'minlashga alohida e'tibor qaratilmoqda. O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasining 4-yo'nalishida «Farmatsevtika sanoatini yanada rivojlantirish, aholi va tibbiyot muassasalarini arzon, sifatli dori vositalari bilan ta'minlanishini yaxshilash» yuzasidan muhim vazifalar belgilab berilgan<sup>1</sup>. Shu yo'nalish sohasida xavfsiz, kam dozali, bitta preparatning o'zida gepatoprotektor, antioksidant, immunotrop va boshqa xususiyatlarni saqlagan dori vositalarni yaratish muhim ahamiyat kasb etadi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022 yil 21 yanvardagi "2022-2026 yillarda respublikaning farmatsevtika tarmog'ini jadal rivojlantirishga oid qo'shimcha chora-tadbirlar to'g'risida" PF-55-sonli farmoni<sup>2</sup>; O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022 yil 20 maydagi "Dorivor o'simliklar xomashyo bazasidan samarali foydalanish, qayta ishlashni qo'llab-quvvatlash orqali qo'shimcha qiymat zanjirini yaratish chora-tadbirlari to'g'risida"gi PF-139-sonli farmonida belgilangan "Dorivor o'simlik xom ashyosidan tayyorlangan biologik faol qo'shimchalar va dori-darmonlarni dorixona savdo maydonchasi javonlarining kamida 10 foiziga joylashtirish" va boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni muayyan darajada hal etishga xizmat qiladi.

**Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishi ustuvor yo'nalishlariga mosligi.** Dissertatsiya respublika fan va texnologiyalar

---

<sup>1</sup> O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-con «2017-2021 yillarda O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida»gi farmoni

rivojlanishining VI. «Tibbiyot va farmakologiya» ustuvor yoʻnalishiga muvofiq bajarilgan.

**Muammoning oʻrganilganlik darajasi.** Bugungi kunda dunyo miqyosida koʻpgina ilmiy markazlarida preparatlarning biologik oʻzlashtirilishini yaxshilash va target terapiya ishlab chiqish boʻyicha tadqiqotlar olib borilmoqda. Jumladan, Li G.F. rahbarligidagi olimlar glitsirizin kislota (GK)ning ayrim qiyin eriydigan sitostatik paklitaksel, podofilotoksin, gidroksikamtotesin, izoxinolin alkaloidi berberin kabi birikmalarni eruvchan shaklga oʻtkazishini koʻrsatib berdilar, shu bilan biologik oʻzlashtirilishining yaxshilanishiga va zaharliligining kamayishiga olib kelgan. Radwant M.A., Aboul-Enein H.Y. va hamkasblari insulinli nanosferalarning soʻrilishini kuchaytirish uchun GKdan foydalanishgan, bunda nanosferalar bilan bogʻlangan insulin 12 kungacha kalamushlarning 50 foizida oʻzining biologik faolligini saqlab qolgan.

MDH mamlakatlarida, xususan, Rossiyada Tolstikov G.A., Salaxutdinov N.F., Polyakov N.Ye. va Selyutinalar O.Yu. rahbarligida GKning suvda qiyin eruvchi preparatlar bilan kompleks hosil qilish mexanizmini lapakonitin, nifedipin, karotinoidlar, zeaksantin,  $\beta$ -karotin misolida tadqiq etishgan.

Respublikamizda bugungi kunda GK va uning hosilalari, xususan, GKning monoammoniyli tuzi (MG) ham suvda qiyin eriydigan dori vositalari bilan “mehmon-mezbon” tipidagi komplekslari olingan. Jumladan, OʻzR FA akademik O.S.Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo institutida k.f.d., prof. Dalimov D.N. va uning izdoshlari k.f.d., prof. Gafurov M.B., k.f.d., prof. Matchanov A.D. rahbarligida *Glycyrrhiza glabra* – qizilmiya oʻsimligi ildizidan GK va uning monoammoniyli tuzining suvda qiyin eriydigan prednizolon (Glipred), asetilsalitsil kislota (GLAS), izoniazid (Tuglizid), megosin (Megaferon), lagoxilin (Glilagin) kabi preparatlar bilan komplekslari olingan. Bioorganik kimyo institutida supramolekulyar komplekslar asosida kam dozali preparatlarni yaratishda izlanishlar davom etmoqda.

**Tadqiqotning dissertatsiya bajarilgan oliy taʼlim yoki ilmiy–tadqiqot muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bogʻliqligi.** Dissertatsiya tadqiqoti Bioorganik kimyo institutining ilmiy-tadqiqot ishlari rejasiga muvofiq A-FA-2019-35 “Mahalliy oʻsimlik xomashyolari asosida immunotrop vositalar yaratish” (06.2019-05.2022) mavzusidagi loyihasi doirasida bajarilgan.

**Tadqiqotning maqsadi:** mahalliy oʻsimlik xom ashyosidan (qizilmiya, *Glycyrrhiza glabra*, yapon soforasi, *Sophora japonica*) supramolekulyar komplekslar asosida olingan gepatoprotektor xususiyatga ega boʻlgan past dozali kompozitsiyaning biologik faolligini aniqlashdan iborat.

**Tadqiqotning vazifalari:**

MG bilan har xil tabiatli antioksidantlar (flavonoidlar, fenol kislotalar, aminokislotalar) kompleks birikmalarining *in vitro* sharoitida antiradikal faolligini baholash;

flavonoidlar, fenol kislotalar va aminokislotalarning MG bilan olingan supramolekulyar komplekslarining toksikologik xususiyatlari, gepatoprotektor va oʻt haydovchi faolliklari *in vivo* skriningini oʻtkazish;

*in vitro* va *in vivo* tadqiqot natijalari tahliliga ko'ra, MG va bir nechta antioksidantlardan iborat ko'p komponentli kompozitsiyalar uchun yuqori samarali komplekslarni tanlash va ular asosida kompozitsiya variantlarini tayyorlash;

olingan kompozitsiyalar orasidan zaharlilik, gepatoprotektor faolligi, immunotrop xususiyatlar bo'yicha yuqori samarali kompozitsiyani tanlash va uni mahalliy, xorijiy gepatoprotektor dori vositalari bilan qiyoslash;

kompozitsiya tarkibidagi komponentlar biologik o'zlashtirilishining ortishi kompleks hosil bo'lishi bilan bog'liqligini *in vivo* tajriba modellarida, instrumental usullar yordamida isbotlash.

**Tadqiqotning ob'ekti** sifatida GKning monoammoniyli tuzi (MG), aminokislotalar (aminokislotalar: arginin (Arg), metionin (Met), triptofan (Trp), sistein (Cys), DL-karnitin·HCl (Car); flavonoidlar: kversetin (Que), rutin (Rut); fenol kislotalar: dolchin (CinA), metoksidolchin (MethA) va ferul (FerA) kislotalari), MGning supramolekulyar komplekslari va kompozitsiyalari, laboratoriya hayvonlari (sichqon, kalamush), qon, organlar olingan.

**Tadqiqotning predmeti** supramolekulyar komplekslar va kompozitsiyalarning antiradikal *in vitro* sharoitida, gepatoprotektor, immunotrop ta'sirini *in vivo* sharoitida o'tkir gepatit modelida aniqlash; me'yoriy fiziologik sharoitlarda kompleks va kompozitsiyalarning hayvon organizmiga zaharli va o't haydovchi ta'sirini aniqlash hisoblanadi.

**Tadqiqotning usullari.** Tadqiqot ishida fizik-kimyoviy, biologik, biokimyoviy, farmakologik, immunologik usullardan foydalanilgan.

**Tadqiqotning ilmiy yangiligi** quyidagilardan iborat:

arginin, metionin, triptofan, sistein, DL-karnitin HCl, kversetin, rutin, dolchin, metoksidolchin va ferul kislotalarning MG bilan komplekslariga o'tganda antiradikal faolligi *in vitro* sharoitida 1,6 dan 6,5 marta ortishi aniqlangan;

birinchi marta glitsirrizin kislotasi monoammoniyli tuzining metoksidolchin kislotasi, metionin, kversetin bilan komplekslari yuqori gepatoprotektor faolligi; karnitin, sistein bilan komplekslari yallig'lanishga qarshi yaqqol faolligi; karnitin, kversetin bilan komplekslarigepatit muhitida qondagi biokimyoviy ko'rsatkichlarni me'yorlashtirishi metionin, metoksidolchin kislotasi bilan komplekslari gepatotsitlarning detoksikasiya faolligini tiklanishi aniqlangan;

birinchi marta 4:0,5:0,5:0,5 molyar nisbatdagi 5 ta: MG:MethA:Cys:Que (C-1), MG:MethA:Met:Que (C-2), MG:Rut:Trp:Car (C-3), MG:Car:Cys:Que (C-4), MG:FerA:Car:Cys (C-5) kompozitsiyalarning spetsifik faolligi tadqiq etilganda eng yuqori gepatoprotektor, antioksidant, immunotrop ta'sir C-4 kompozitsiyada ekanligi asoslangan;

barcha tadqiq qilingan komplekslar va kompozitsiyalar oshqozon va qorin bo'shlig'i orqali kiritilganda, ularning kam zaharli birikmalar sinfiga oid ekanligi isbotlangan;

C-4 kompozitsiyasining tarkibiy komponentlari (MG, karnitin, kversetin, sistein) ekvivalent dozada alohida qo'llanilganda, gepatoprotektor faollikning yo'qolishi *in vivo* tajribalarda isbotlangan;

C-4 kompozitsiyasining tarkibiy qismida kversetin o'rniga ekvivalent molyar

nisbatda rutin kiritilganda, yangi kompozitsiya tarkibidagi rutin hayvonlar ichagida biotransfarmatsiyaga uchramasdan, o'zgarmagan holda qon plazmasiga o'tishi asoslangan.

**Tadqiqotning amaliy natijalari** quyidagilardan iborat:

C-4 misolida MG asosida ko'p komponentli biologik faolligi yuqori bo'lgan kompozitsiyalar olish imkoniyati borligi asoslangan;

mahalliy o'simlik xomashyolari asosida olingan C-4 kompozitsiya gepatoprotektor, immunotrop faolligi bo'yicha tibbiyot amaliyotida qo'llanuvchi Gepa-NOVO gepatoprotektor dori vositasidan samarali ekanligi aniqlangan.

**Tadqiqot natijalarining ishonchligi** olingan natijalar zamonaviy biokimyoviy, gematologik hamda farmakologik usullardan foydalanilganligi, natijalarning tegishli statistik usulda qayta ishlanganligi, ushbu natijalarning amaliyotga tatbiq etilganligi, shuningdek, natijalarning milliy va xalqaro ilmiy anjumanlarda muhokama qilinganligi, nufuzli ilmiy jurnallarda chop etilganligi bilan asoslangan.

**Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.**

Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati antioksidantlar (aminokislotalar va fenol birikmalar)ning MG bilan komplekslari antiradikal faolligi *in vitro* sharoitida antioksidantlar o'ziga nisbatan 1,6 dan 6,5 marta ortishi; MGning Met, MethA, Que bilan komplekslari yuqori gepatoprotektor faollik; Car, Cys bilan komplekslari yallig'lanishga qarshi yaqqol faollik ko'rsatishi; Met, MethA komplekslari jigar hujayralarining detoksikasiya faolligini va Car, Que gepatit muhitida qonning biokimyoviy ko'rsatkichlarni me'yorlashtirishini namoyon etganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati shundan iboratki, C-4 kompozitsiyasining gepatoprotektor, immunotrop ta'siri Gepa-NOVO gepatoprotektor dori vositasidan samarali ekanligi o'tkir zaharli gepatit modelida umumiy oqsil darajasi, ALT, AST, mochevina, qonning gemostaz ko'rsatkichlarini (protrombin vaqti, qisman faollashtirilgan tromboplastin vaqti) normallashtirish, jigar og'irligi ko'rsatkichlarini fiziologik me'yor darajasiga tushirish imkonini beradi xamda xavfsiz, bitta preparatning o'zida gepatoprotektor, antioksidant, immunotrop xususiyatlarga ega bo'lgan dori vositalarni yaratishga xizmat qiladi.

**Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi.** Gepatoprotektor, antioksidant, immunotrop xususiyatlarga ega mahalliy o'simlik xomashyosidan ishlab chiqilgan C-4 kompozitsiyasi bo'yicha olingan ilmiy natijalar asosida:

C-4 kompozitsiyasining biologik faolliklaridan "O'simliklar tarkibidan biologik faol birikmalarni ajratib olish, individual birikmalarga ajratish va ular asosida yangi hosilalarini sintez qilish, fizik-kimyoviy va spektral xususiyatlarini hamda biologik faolliklarini tadqiq etish" mavzusidagi loyihada gossipolning diazoimin hosilalari gepatoprotektor xususiyatlarini aniglashda foydalanilgan (O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasining 2023 yil 03 oktabrdagi 4/1255-2097-son ma'lumotnomasi). Natijada, gossipol diazoimin hosilalari immunitet tizimi va jigar hujayralariga nisbatan regulyatorlik xususiyatlariga ega ekanligi isbotlash imkonini bergan;

C-4 kompozitsiyasidan (20 mg/kg) “Biologik faol birikmalarning struktur funksional tadqiqotlari, ta’sir mexanizmini o’rganish, yuqori samarali dori vositalari va diagnostikumlarni konstruirlash” mavzusidagi fundamental loyihada Fosfogliv farmakopeya preparati (Rossiya) bilan bir qatorda, *Brassica rapa* va *Nigella sativa*, *Sambucus nigra* dorivor o’simliklardan ajratilgan birikmalar bilan sichqonlarda o’tkir toksik gepatit va uning asoratlarini davolashda qiyosiy preparat sifatida foydalanilgan (O‘zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi ma’lumotnomasi, 2023 yil 03 oktabr № 4/1255-2097). Natijada, *Brassica rapa*, *Nigella sativa*, *Sambucus nigra* dorivor o’simliklaridan olingan birikmalarning jigar hujayralarini qayta tiklash va immunitet tizimini rag‘batlantirish xususiyatlariga ega ekanligi isbotlash imkonini bergan;

glitsirizin kislotasi monoammoniyli tuzi kompozitsiyasidan Barselona universiteti, Biokimyoviy va molekulyar biologiya Departamenti, Tibbiyot fakulteti, Biofizika bo‘limi loyihasida organizmdagi oksidlovchi stressning gepatoproteksiya bilan bog‘liqligini baholashda yangi dori yetkazib berish tizimlarini o’rganishda foydalanilgan (Barselona universitetining 2024 yil 27 maydagi ma’lumotnomasi). Natijada, hosil bo‘lgan komplekslarni biologik o‘zlashtirishni oshirishini aniqlash imkonini bergan.

**Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi:** Tadqiqot natijalari 18 ta ilmiy-amaliy anjumanlarda, jumladan 4 ta xalqaro va 14 ta respublika miqyosidagi ilmiy-amaliy anjumanlarda muhokama qilingan.

**Tadqiqot natijalarining e’lon qilinganligi:** Dissertatsiya mavzusi bo‘yicha 25 ta ilmiy ish chop etilgan, ulardan 7 ta maqola: asosiy natijalarini e’lon qilish uchun O‘zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasi tavsiya etgan xorijiy jurnallarda 2 ta hamda respublika jurnallarida 5 ta ilmiy maqola e’lon qilingan.

**Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi:** Kirish, to‘rtta bob, yakuniy xulosalar va foydalanilgan adabiyotlardan tashkil topgan. Dissertatsiya hajmi 107 sahifadan iborat.

## DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

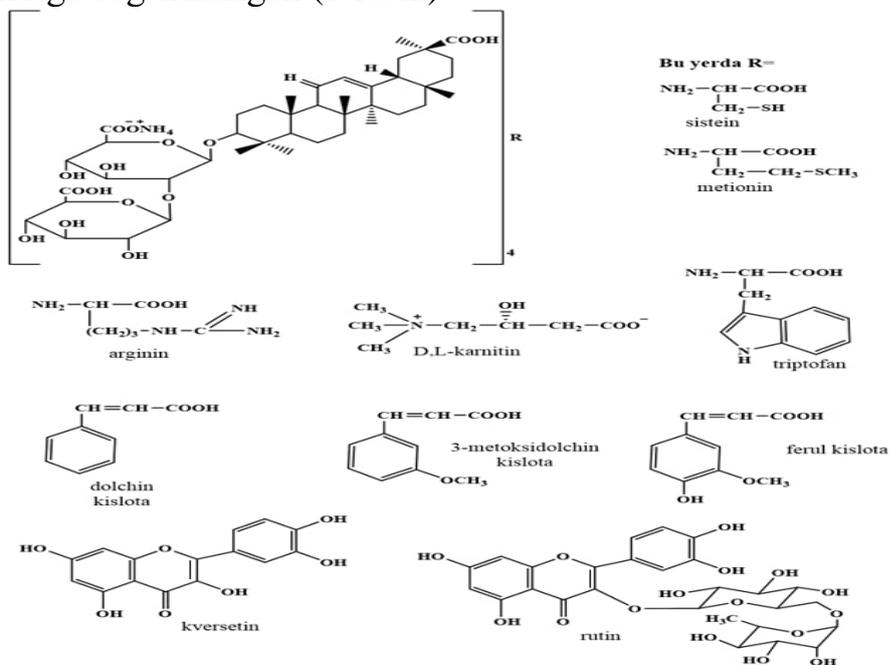
**Kirish** qismida o‘tkazilgan tadqiqotlarning dolzarbligi va zaruriyligi, ularning maqsad va vazifalari asoslab berilgan, tadqiqotning ob’ekti va predmeti tavsiflangan, tadqiqotning O‘zbekiston Respublikasida fan va texnologiyalarni rivojlantirish yo‘nalishiga muvofiqligi ko‘rsatilgan. Tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilinib, natijalarning nazariy va amaliy ahamiyati, tadqiqot natijalarining amaliyotga joriy etish asoslari ochib berilgan, nashr qilingan ilmiy ishlar va dissertatsiyaning tarkibiy tuzilishi bo‘yicha ma’lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning «**Gepatorprotektorlar, gepatitning og‘ir asoratlari profilaktikasi, uni davolash va oldini olish**» deb nomlangan birinchi bobida turli xil etiologiyali gepatitlar muammosi, ularning asoratlari va ushbu patologiyaning korreksiyalash mumkin bo‘lgan usullari, shu jumladan o’simlik preparatlari yordamida davolash bo‘yicha zamonaviy ilmiy adabiyotlarning tahlili keltirilgan. Xususan, yalang‘och qizil miya o’simligidan olingan glitsirizin kislotasining gepatoprotektorlik xossasi, shuningdek, uning biologik faol birikmalar, shu

jumladan yuqori antioksidant xususiyatlarga ega bo'lgan aminokislotalar (metionin, sistein, triptofan, arginin, L-karnitin), flavonoidlar (rutin, kversetin) va fenol kislotalar (dolchin, metoksidolchin va ferul kislotalari) bilan kompleks hosil qilib, organizmda dori yetkazib berish tizimi hosil qilishiga asoslangan preparatlarni olish imkonini beruvchi xususiyatidan foydalanish istiqbollari ochib berilgan.

Dissertatsiyaning «**Gepatoprotektorlarni ishlab chiqishning zamonaviy modellari va usullari**» deb nomlangan ikkinchi bobida qo'yilgan vazifalarni bajarishda foydalanilgan usul va materiallar haqida ma'lumotlar bayon etilgan. Antiradikal faollikni aniqlash uchun *in vitro* zamonaviy usullari, o'tkir zaharli gepatitning *in vivo* modellarida jigar disfunktsiyasini o'rganish (detoksikasiya, sintez, antioksidantlik, immunologik va boshqa funksiyalar), o'rganilayotgan komplekslar va kompozitsiyalarning strukturaviy va funksional bog'liqligini aniqlash, shuningdek, ularning xavfsizligi va jigarining safro hosil qilish va ajratish faoliyati xususiyatlarini baholashning farmakotoksikologik usullari batafsil tavsiflangan. Tadqiq qilingan birikmalar (komplekslar, kompozitsiyalar) va qiyosiy preparatlar tajriba hayvonlarining turi va tadqiqot modellariga bog'liq holda dozalarni hisoblash usullari bayon etilgan.

Dissertatsiyaning «**Supramolekulyar komplekslar, ularning fizik-kimyoviy va biologik xususiyatlari**» deb nomlangan uchinchi bobi glitsirrizin kislotali monoammoniyli tuzining (MG) antioksidantlar (aminokislotalar: arginin (Arg), metionin (Met), triptofan (Trp), sistein (Cys), DL-karnitin·HCl (Car) va fenol birikmalar: kversetin (Que), rutin (Rut), dolchin (CinA), metoksidolchin (MethA) va ferul (FerA) kislotalari) bilan 4:1 molyar nisbatda olingan 10 ta kompleksning tadqiqot natijalariga bag'ishlangan (1-rasm).



1-rasm. MGning supramolekulyar komplekslari sxemasi

Olingan komplekslarning antiradikal faolligi (ARF) antioksidantlar va MG bilan taqqoslab *in vitro* tadqiq qilindi. Moddalarning ARF ko'rsatkichi quyidagi tartibda kamaydi: Rut > Que > MethA > Arg > FerA va boshqalar; barcha

o'rganilgan antioksidantlarning kompleksi ARFning 1,5-6,5 martaga ortishiga olib keldi ( $p < 0,05$ ), MG: MethA > MG:Car > MG:Met > MG:Arg > MG:Trp va boshqalar (1-jadval).

1 -jadval

**Antioksidantlar va ular bilan olingan supromolekulyar komplekslarning qiyosiy antiradikal faolliklari**

| Moddalar   | Individual holda, IC <sub>50</sub> , mg/l | Kompleks tarkibida IC <sub>50</sub> , mg/l | Individual moddalarga nisbatan kompleksdagi |                                     |
|------------|---|--|---|-------------------------------------|
|            |   |  | ARF ortish darajasi                         | Modda miqdorining kamayish darajasi |
| PRAA usuli |   |  |   |                                     |
| MethA      | 1,72±0,05***                              | 0,52±0,02 <sup>##</sup>                    | 3,3   | 65,6                                |
| Car        | 3,47±0,10****                             | 0,53±0,02 <sup>##</sup>                    | 6,5   | 143,0                               |
| Met        | 2,58±0,08***                              | 0,56±0,02 <sup>##</sup>                    | 4,6   | 108,4                               |
| Arg        | 1,89±0,05***                              | 0,59±0,02 <sup>##</sup>                    | 3,2   | 65,0                                |
| Trp        | 2,35±0,07***                              | 0,68±0,02 <sup>##</sup>                    | 3,5   | 60,3                                |
| FerA       | 2,06±0,06***                              | 0,72±0,02 <sup>##</sup>                    | 2,9   | 52,4                                |
| CinA       | 2,27±0,07***                              | 0,93±0,03 <sup>##</sup>                    | 2,4   | 68,8                                |
| Que        | 1,68±0,05**                               | 1,13±0,03 <sup>##</sup>                    | 1,5   | 18,0                                |
| Rut        | 1,58±0,05*                                | 1,26±0,03 <sup>##</sup>                    | 1,3   | 8,2                                 |
| Cys        | 3,56±0,10***                              | 1,72±0,05 <sup>#</sup>                     | 2,1   | 59,6                                |
| MG         | 4,45±0,13                                 |  |   |                                     |
| FRAP usuli |   |  |   |                                     |
| MethA      | 0,82±0,02***                              | 0,25±0,01 <sup>###</sup>                   | 3,3   | 65,1                                |
| Car        | 1,65±0,05***                              | 0,25±0,01 <sup>##</sup>                    | 6,6   | 144,1                               |
| Met        | 1,23±0,03****                             | 0,25±0,01 <sup>###</sup>                   | 4,9   | 115,8                               |
| Arg        | 0,90±0,03***                              | 0,28±0,01 <sup>###</sup>                   | 3,2   | 65,2                                |
| Trp        | 1,12±0,03***                              | 0,32±0,01 <sup>###</sup>                   | 3,5   | 61,1                                |
| FerA       | 0,98±0,03***                              | 0,34±0,01 <sup>###</sup>                   | 2,9   | 52,8                                |
| CinA       | 1,08±0,03***                              | 0,44±0,01 <sup>###</sup>                   | 2,5   | 58,2                                |
| Rut        | 0,75±0,02**                               | 0,45±0,01 <sup>###</sup>                   | 1,7   | 10,8                                |
| Que        | 0,80±0,02**                               | 0,54±0,02 <sup>###</sup>                   | 1,5   | 18,0                                |
| Cys        | 1,54±0,05***                              | 0,55±0,02 <sup>##</sup>                    | 2,8   | 80,5                                |
| MG         | 2,12±0,06                                 |  |   |                                     |

Eslatma: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\*\*\* -  $p < 0,0001$  –komplekslar bilan individual moddalar orasidagi ahamiyatli farqlar; # -  $p < 0,05$ , ## -  $p < 0,01$ , ### -  $p < 0,001$  komplekslarning MG orasidagi ahamiyatli farqlar.

Shu bilan birga nazariy hisob-kitoblar asosida ekvivalent faollikga ega bo'lgan kompleksdagi moddalar miqdorini kamayishini aytib o'tish zarur. Bunda kompleksdagi flavonoidlar miqdori 10-20 martaga, fenol kislotalar miqdori 50-70 martaga va aminokislotalar miqdori 60-150 martaga kamayganligi kuzatildi (1-jadval). Komplekslarning umumiy ta'siri va o'tkir zaharliligi sichqonlarda bir marta oshqozonga va qorin bo'shlig'iga yuborish orqali aniqlandi. Oshqozonga yuborilganda barcha komplekslar VI – nisbatan zararsiz birikmalar sinfiga kiritildi. MG:Car, MG:Cys va MG:MethA komplekslari qorin bo'shlig'iga kiritilganda VI-nisbatan zararsiz birikmalar, qolganlari esa V-deyarli zaharli bo'lmagan birikmalar sinflariga mansubligi aniqlandi. Ular orasida MG:Car, MG:Cys va MG:MethA komplekslari eng kam zaharli deb topildi. Intakt kalamushlarda supramolekulyar komplekslarning jigarning safro hosil qilish va ajratish faoliyati skriningsi

o'tkazilganda, komplekslar orasida statistik ahamiyatli farqlar yo'qligi aniqlangan, biroq barcha komplekslarning kuchsiz safro haydash xususiyati kuzatilgan.

Sichqonlarda  $CCl_4$  bilan chaqirilgan zaharli gepatit *in vivo* modelida Supramolekulyar komplekslar 5 mg/kg dozada oshqozonga yuborilganda, ularning gepatoprotektor faollik koeffitsienti (GFK) 1) hayvonlarning yashovchanligi (%), 2) umrining davomiyligi (kunlar), 3) jigarning og'irlik koeffitsienti bo'yicha baholandi (2-jadval).

2-jadval

**$CCl_4$  bilan induksiyalangan gepatitli sichqonlarda 5 mg/kg dozada o'rganilayotgan Supramolekulyar komplekslarning gepatoprotektor faolliigi *in vivo* ( $M \pm m$ ,  $n=4$ )**

| Guruhlar                                       | Sichqonlarning yashovchanligi (%) | Umrining davomiyligi (kunlar) | Jigarning og'irlik koeffitsienti | Umumiy GFK |
|--|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|------------|
| Sog'lom hayvonlar                              | 100                               | -                             | 4,60±0,26                        | 1          |
| Nazorat hayvonlari                             | 25                                | 1±0,2                         | 7,41±0,68                        | 0          |
| Yuqori gepatoprotektor faollik darajasi        |                                   |                               |                                  |            |
| MG:MethA                                       | 100                               | -                             | 5,80±0,24                        | 0,86       |
| MG:Met   | 100                               | -                             | 6,00±0,46                        | 0,83       |
| MG:Que   | 100                               | -                             | 6,34±0,51                        | 0,79       |
| O'rtacha gepatoprotektor faollik darajasi      |                                   |                               |                                  |            |
| MG:Rut   | 50                                | 5±0,3*                        | 6±0,49                           | 0,54       |
| MG:Car   | 50                                | 1,5±0,1                       | 4,75±0,39*                       | 0,46       |
| MG:FerA  | 75                                | 1                             | 5,74±0,34                        | 0,42       |
| Nisbatan past gepatoprotektor faollik darajasi |                                   |                               |                                  |            |
| MG:Arg   | 75                                | 2*                            | 6,73±0,48                        | 0,37       |
| MG:Cys   | 25                                | 2±0,2*                        | 5,16±0,36*                       | 0,33       |
| MG:Trp   | 50                                | 2±0,2*                        | 6,20±0,53                        | 0,32       |
| MG:CinA  | 75                                | 1                             | 7,28±0,55                        | 0,24       |

Eslatma: \* –  $p < 0,05$  nazoratga nisbatan

Hayvonlarda jigarning eng yuqori detoksikasiya darajasi MG:MethA, MG:Met, MG:Que komplekslari ta'sirida kuzatilib, ularning 100% tirik qolishiga erishilgan. Shunday qilib,  $CCl_4$  bilan chaqirilgan gepatitli sichqonlarga 5 mg/kg dozada bir marta oshqozonga yuborilgan MG:MethA, MG:Met, MG:Que komplekslari yuqori gepatoprotektor faollik darajasi, MG:Rut, MG:Car, MG:FerA o'rta gepatoprotektor faollik darajasini namoyon etgan. MG:Car va MG:Cys komplekslarining kiritilishi jigar vazni koeffitsientlarini mos ravishda o'rtacha 35 va 30% ga kamayishiga olib keldi (nazoratga nisbatan  $p < 0,05$ ).

Keyingi tadqiqotlarda aniqlangan o'tkir zaharlash parametrlari, ARF, GFK ko'rsatkichlar bo'yicha MG:MethA, MG:Met, MG:Que va MG:Car komplekslari tanlangan. MG:MethA, MG:Met, MG:Que va MG:Car komplekslarning 2,5 va 5 mg/kg dozalaridagi biologik faolliigi bir qator ko'rsatkichlar bo'yicha kalamushlarda parasetamol bilan chaqirilgan o'tkir zaharli gepatit (O'ZG) modelida Gepa-NOVO preparati (150 mg/kg) bilan qiyosiy tahlil qilindi.

*In vitro* va *in vivo* kompleks birikmalarini o'rganish natijalari bo'yicha umumlashtirilgan ma'lumotlar 3-jadvalda keltirilgan. Olingan natijalar turli xil ta'sirga ega bo'lgan bir nechta komponentlarni bitta kompozitsiyada birlashtirish

zarurligini ko'rsatdi: "tashuvchi" sifatida-glitsirizin kislotasining monoammoniy tuzi; "mehmon" molekular sifatida-3 ta antioksidant tanlandi.

### 3-jadval

#### O'rganilgan ko'rsatkichlar bo'yicha tanlangan komplekslar

| Model  | Ko'rsatkichlar  | Komplekslar                              |
|--|---|--|
| <i>Invitromodel</i>  | Antiradikal faollik (PRAA, FRAP usullar)  | MG:MethA, MG:Car, MG:Met, MG:Arg, MG:Trp |
| CCl <sub>4</sub> bilan chaqirilgan o'tkir zaharli hepatit modeli | Gepatoprotektor faollikning yuqori darajasi   | MG:MethA, MG:Met, MG:Que                 |
|  | Gepatoprotektor faollikning o'rta darajasi  | MG:Rut MG:Car, MG:FerA                   |
|  | Yallig'lanishga qarshi xususiyat  | MG:Car, MG:Cys                           |
| Paratsetamolli hepatit modeli                                    | Gepatotsitlar reparatsiyasi (biokimyoviy ko'rsatkichlar: ALT, AST, UO, UX, BLN, GLK, mochevina) | MG:Car, MG:Que                           |
|  | Gemostaz ko'rsatkichlarining tiklanishi (PV, QFTV, fibrinogen)                                  | MG:Car, MG:Que                           |
|  | Gepatotsitlarning detoksikatsion faolligi   | MG:MethA, MG:Met                         |
| O'tkir zaharlilik  | O'rtacha o'lim dozasi LD <sub>50</sub>  | MG:Car, MG:Cys, MG:MethA                 |

To'rtinchi bobda «**Supramolekulyar komplekslar asosida olingan kompozitsiyalar**» bo'yicha olingan natijalar yoritilgan bo'lib, tadqiqotlar davomida 4:0,5:0,5:0,5 molyar nisbatda C-1 (MG:MethA:Cys:Que), C-2 (MG:MethA:Met:Que), C-3 (MG:Rut:Trp:Car), C-4 (MG:Car:Cys:Que), C-5 (MG:FerA:Car:Cys) 5 ta kompozitsiya olingan va o'rganilgan. Kompozitsiyalarning o'tkir zaharliligini o'rganish shuni ko'rsatdiki, ular oshqozonga yuborilganda VI-nisbatan zararsiz birikmalar sinfiga tegishliligi aniqlangan. Sichqonlarning qorin bo'shlig'iga kiritilganda LD<sub>50</sub> o'rtacha o'lim dozasi 708-1200 mg/kg bo'lib, V-deyarli zaharli bo'lmagan birikmalar sinfiga kiritilgan. Qorin bo'shlig'iga kiritilganda eng past o'tkir zaharlilik C-4 kompozitsiyasida bo'lgan, LD<sub>50</sub>=1200 mg/kg tashkil etgan.

Kompozitsiyalarning hepatoprotektor faolligini baholash sichqonlarda CCl<sub>4</sub> chaqirgan O'ZG modelida o'tkazildi (4-jadval). Eng yaxshi hepatoprotektor faollik C-4 kompozitsiyasining 10 mg/kg dozasida aniqlangan. Xuddi shu dozada C-3 tarkibining ta'siri biroz kamroq bo'ldi.

### 4-jadval

#### Sichqonlarda CCl<sub>4</sub> bilan chaqirilgan O'ZG modelida o'rganilayotgan kompozitsiyalarning hepatoprotektor faolligi, (M±m, n=9)

| Guruhlar          | Sichqonlarning yashovchanligi (%) | O'lgan hayvonlarning yashash davomiyligi (kunlar) | Jigarning og'irlik koeffitsienti | GFK   |
|-------------------|-----------------------------------|---|----------------------------------|-------|
| Sog'lom hayvonlar | 100                               | -   | 4,60±0,26                        | 1     |
| Nazorat           | 11,1                              | 3,22±0,52   | 8,4±0,68*                        | 0     |
| C-4, 10 mg/kg     | 66,7                              | 4,78±0,62   | 7,60±0,24*                       | 0,58  |
| C-3, 10 mg/kg     | 55,6                              | 4,44±0,63   | 7,40±0,46*                       | 0,464 |
| C-1, 10 mg/kg     | 44,4                              | 4,33±0,67   | 6,2±0,39*#                       | 0,384 |
| C-2, 10 mg/kg     | 22,2                              | 4±0,47  | 7,00±0,36*                       | 0,205 |
| C-5, 10 mg/kg     | 33,3                              | 3,33±0,62   | 7,6±0,49*                        | 0,143 |

Eslatma: # - p<0,05 nazoratga nisbatan, \* - p<0,05 sog'lom hayvonlarga nisbatan

Immunotrop faollikni o'rganish uchun 5 ta gepatoprotektor faollik ko'rsatgan kompozitsiyadan 4 tasi tanlandi: C-1, C-2, C-3 va C-4 (1,25, 2,5 va 5,0 mg/kg dozalarda). Me'yoriy fiziologik sharoitda tanlangan kompozitsiyalarning immunotropfaolligini tadqiq qilish shuni ko'rsatdiki, Gepa-NOVO bilan qiyoslaganda C-1 kompozitsiyasi 2,5 va 5,0 mg/kg dozalarda, C-4 kompozitsiyasi 2,5 mg/kg dozada eng katta immunostimulyator faollikka ega bo'ldi (5-jadval).

**5-jadval**

**Kompozitsiyalarning qo'y eritrotsitlariga qarshi immun javobiga ta'siri (M±m, n=5)**

| Guruhlar  | Doza       | Taloq og'irligi, mg | RI    | TYaHsoni ×10 <sup>6</sup> | RI   | Butun taloqda AHH | RI   |
|-----------|------------|---------------------|-------|---------------------------|------|-------------------|------|
| Nazorat   | Dis. suv   | 170,4±2,96          | -     | 28,8±3,74                 | -    | 1440,0±187,3      | -    |
| Gepa-NOVO | 150 mg/kg  | 186,6±4,41          | 2,59  | 59,2±6,32**               | 2,05 | 2960,0±316,4**    | 2,05 |
| C-1       | 1,25 mg/kg | 128,2±1,45          | -0,75 | 45,8±4,81*                | 1,59 | 2290,0±240,5*     | 1,59 |
|           | 2,5 mg/kg  | 154,8±2,51          | -0,9  | 58,8±8,20**               | 2,04 | 2940,0±46,5**     | 2,04 |
|           | 5,0 mg/kg  | 164,2±1,60          | -0,96 | 62,4±7,04*                | 2,23 | 3120,0±352,4**    | 2,16 |
| C-2       | 1,25 mg/kg | 155,2±8,81          | -0,91 | 41,8±5,42                 | 1,45 | 2090,0±271,3      | 1,45 |
|           | 2,5 mg/kg  | 181,4±1,68          | 2,56  | 53,4±8,65*                | 1,85 | 2670,0±432,6*     | 1,85 |
|           | 5,0 mg/kg  | 181,2±2,16          | 1,66  | 39,0±6,80                 | 1,35 | 1950,0±340,2      | 1,35 |
| C-3       | 1,25 mg/kg | 130,4±2,62          | -0,76 | 47,0±3,14**               | 1,63 | 2350,0±157,3**    | 1,63 |
|           | 2,5 mg/kg  | 168,0±1,99          | -0,98 | 52,4±4,35***              | 1,82 | 2632,0±220,5*     | 1,87 |
|           | 5,0 mg/kg  | 105,0±4,44          | -0,61 | 39,2±2,56**               | 1,36 | 1960,0±53,4*      | 1,36 |
| C-4       | 1,25 mg/kg | 96,4±1,33           | -0,56 | 42,8±1,90*                | 1,48 | 2140,0±95,3*      | 1,48 |
|           | 2,5 mg/kg  | 151,4±4,29          | -0,88 | 58,8±5,51**               | 2,04 | 2940,0±275,9**    | 2,04 |
|           | 5,0 mg/kg  | 116,6±1,45          | -0,68 | 39,0±3,89                 | 1,35 | 1950,0±194,9      | 1,35 |

Eslatma: AHH- antitana hosil qiluvchi hujayralar, TYaH – taloqning yadroli hujayralari, RI – rag'batlantirish indeksi, \* - p<0,05, \*\* - p<0,01 va \*\*\* - p<0,001 nazoratga nisbatan.

Gepatoprotektor va immunotrop faollikning skriningi davomida o'tkazilgan ikkita tajribaning yakuniy natijasiga ko'ra, shuningdek, kompozitsiyalarning o'tkir zaharlilik ko'rsatkichlari asosida keyingi tadqiqotlar uchun C-4 kompozitsiyasi tanlandi. Biroq, shuni ta'kidlash kerakki, 2 komponentdan iborat MG:MethA; MG:Met; MG:Que komplekslar avvalgi tajribalarda yuqori gepatoprotektor faollik darajasini (GFK 0,7 va undan yuqori) ko'rsatgan bo'lsa, C-4 va C-3 kompozitsiyalar o'rtacha gepatoprotektor faollik ko'rsatgan edi, shuning uchun biz tashuvchi va 3 ta komponentdan iborat bo'lgan kompozitsiyalarda komponentlarning ulushi 3 barobarga kamayadi, bu esa davolash samarasini kamayishiga olib keladi deb taxmin qildik. Shu munosabat bilan, keyingi tadqiqotlarda C-4 kompozitsiya tanlanib, uning terapevtik dozasi aniqlash maqsad qilindi (6-jadval).

C-4 kompozitsiyaning terapevtik dozasi kalamushlarda paratsetamol bilan chaqirilgan O'ZG modelida 5 va 10 mg/kg dozalarda aniqlandi. Gepatoprotektor faollikni o'rganishda C-4 kompozitsiyasi Gepa-NOVO bilan solishtirildi va 10 mg/kg dozada eng samarali bo'lib chiqdi. Shu bilan birga, yuqori dozalardagi paratsetamolning zaharli ta'siridan kelib chiqqan hepatotsitlarning shikastlanishi tiklandi, ALT va AST fermentlari, umumiy oqsil, mochevina ko'rsatkichlarime'yoriy darajaga tushdi va jigarning sintezlash funksiyasi tiklanib, gemostaz ko'rsatkichlari (protrombin vaqti, PV, qisman faollashtirilgan tromboplastin vaqti, QFTV va fibrinogen) sog'lom hayvonlar darajasiga tushdi.

**C-4 kompozitsiyasining kalamushlarda paratsetomol bilan chaqirilgan gepatit modelida gepatoprotektor faolligi (M±m, n=5)**

| Ko'rsatkichlar                   | Sog'lom hayvonlar | Nazorat      | Gepa-NOVO, 150 mg/kg | C-4          |              |
|----------------------------------|-------------------|--------------|----------------------|--------------|--------------|
|                                  |                   |              |                      | 5 mg/kg      | 10 g/kg      |
| Qonning biokimyo ko'rsatkichlari |                   |              |                      |              |              |
| Umumiy oqsil, g/l                | 61,6 ± 2,6        | 53,3 ± 1,6*  | 63,5 ± 3,5#          | 53,6 ± 2,8*  | 63,0 ± 1,6#  |
| ALT, YeD/l                       | 39,4 ± 4,7        | 61,7 ± 14,4* | 40,5 ± 4,3#          | 56,6 ± 3,0*+ | 41,5 ± 3,8#  |
| AST, YeD/l                       | 33,0 ± 4,1        | 51,7 ± 12,5* | 38,5 ± 4,9#          | 40,1 ± 2,4#  | 36,2 ± 5,3#  |
| Mochevina, mmol/l                | 4,4 ± 0,4         | 2,5 ± 0,6*   | 4,4 ± 0,5#           | 5,3 ± 0,1#   | 5,0 ± 0,2#   |
| Gemostaz ko'rsatkichlari         |                   |              |                      |              |              |
| PV, soniya                       | 23,1±1,2          | 78,7±4,5*    | 18,7±1,6#            | 50,5±3,5*#+  | 22±1,4#      |
| QFTV, soniya                     | 29,0±1,1          | 145,7±12,0*  | 46,4±2,8*#           | 29,3±1,3#+   | 27,4±1,1#+   |
| Fibrinogen, mg/dl                | 400±26,0          | 256,5±26,0*  | 267,5±14,7*          | 475±28,0#+   | 406,5±26,4#+ |

Eslatma: # - p<0,05 nazoratga nisbatan, \*- p<0,05 sog'lom hayvonlarga nisbatan, + - p<0,05 Gepa-NOVOga nisbatan

Shunday qilib, kalamushlarda C-4 kompozitsiyasining terapevtik dozani aniqlash bo'yicha tadqiqot natijalariga ko'ra, ushbu kompozitsiyaning eng samarali dozasi 10 mg/kg ekanligi aniqlandi (sichqonlar uchun 20 mg/kg).

Tadqiqotning keyingi bosqichida C-4 kompozitsiyasining zaharli (CCl<sub>4</sub> kiritish orqali chaqirilgan) gepatit muhitida ikkilamchi immunitet tanqisligi modelida immunotrop xususiyatlari aniqlandi. Ma'lumki, jigar eng rivojlangan immunitet to'qimasi bo'lib, u ichaklarga kiradigan bakteriyalar, viruslar va makromolekulalarni zararsizlantirishda, o'tkir faza oqsillarni, antitanalar, komplementar tizim oqsillari, sitokinlar/interleykinlar va boshqalarni sintez qilishda ishtirok etadi. C-4 kompozitsiyasining, 20 mg/kg, va Gepa-NOVO preparatining, 300 mg/kg, immunotrop faolligi 5 kunlik davolanishdan keyin O'ZG bo'lgan sichqonlarning gumoral immunitetiga ta'siri 1) qo'y eritrotsitlariga (QE) javoban taloqning antitana hosil qiluvchi hujayralari (AHH), 2) taloq yadroli hujayralari (TYaH), 3) qon zardobidagi qo'y eritrotsitlariga qarshi antitanalar titri ko'rsatkichlari bo'yicha baholandi (7-jadval). C-4 kompozitsiyaning ikkilamchi immunitet tanqisligi mavjud bo'lgan sichqonlarning hujayra immunitetiga ta'siri 1) markaziy (timus, ilik ko'migi) va periferik (limfa tugunlari) immun tizimi organlaridagi hujayralarning umumiy soni, 2) qondagi leykotsitlar ko'rsatkichi bo'yicha o'rganildi (8-jadval).

**Ikkilamchi immunitet tanqisligi modelida C-4 kompozitsiyasining sichqonlarning gumoral immunitetiga ta'siri (M±m, n=6)**

| Ko'rsatkichlar   | Sog'lom hayvonlar | Nazorat guruhi | RI   | Gepa-NOVO, 300 mg/kg | RI   | C-4, 20 mg/kg  | RI   |
|--|-------------------|----------------|------|----------------------|------|----------------|------|
| taloqda AHH  |                   |                |      |                      |      |                |      |
| TYaH, *10 <sup>6</sup>   | 170,9± 4,0        | 105,6± 2,6*    | -1,6 | 128,2± 2,9*#         | +1,2 | 129,5± 2,9*#   | +1,2 |
| Taloqda AHH  | 5356,3±310,7      | 912,5±54,9*    | -5,9 | 1737,5±103,8*#       | +1,9 | 1918,8±113,4*# | +2,1 |
| 10 <sup>6</sup> TYaHga AHH soni                                | 31,4±1,7          | 8,6±0,5*       | -3,7 | 13,6±0,8*#           | +1,6 | 14,8±0,8*#     | +1,7 |
| qon zardobidagi qo'y eritrotsitlariga qarshi antitanalar titri |                   |                |      |                      |      |                |      |
| Antitanalar titri (log <sub>2</sub> )                          | 4,8 ± 0,3         | 2,1 ± 0,1*     | -2,3 | 3,0 ± 0,2*#          | +1,4 | 2,9 ± 0,1*#    | +1,4 |

Eslatma: AHH-antitana hosil qiluvchi hujayralar, TYaH-taloqning yadroli hujayralari, RI-rag'batlantirish indeksi bo'yicha: (-) - sog'lom hayvonlarga nisbatan, (+)-nazoratga nisbatan; \* - p<0, 05 – sog'lom hayvonlarga nisbatan, # - p<0, 05 – nazoratga nisbatan.

Olingan ma'lumotlarga ko'ra, 20 mg/kg dozada C-4 kompozitsiya O'ZG bo'lgan sichqonlarda ikkilamchi immunitet tanqisligini tiklagan: butun taloqdagi AHH soni 2,1 marta ortdi; 1 million splenotsitga to'g'ri keladigan AHH soni-1,72 marta; qonda qo'y eritrotsitlariga qarshi antitanalar titri-1,43 marta; immunitet organlaridagi hujayralar soni: timusda-1,45 marta, ilik ko'migida-1,30 marta, limfa tugunlarida-1,36 marta; qonda eritrotsitlar 1,29 marta va leykotsitlar soni 1,38 martaga ortdi. Sichqonlar talog'idagi AHH populyatsiyasiga nisbatan faolligi bo'yicha, qo'y eritrotsitlariga qarshi antitanalar titri, immun tizimi organlari hujayralarining umumiy soni, O'ZG bo'lgan hayvonlar qonida eritrotsitlar va leykotsitlar darajasi ko'rsatkichlari bo'yicha C-4 kompozitsiyasi Gepa-NOVO qiyosiy preparatidan kam emas.

### 8-jadval

#### Ikkilamchi immunitet tanqisligi modelida C-4 kompozitsiyasining sichqonlarning hujayra immunitetiga ta'siri ( $M \pm m$ , $n=6$ )

| Ko'rsatkichlar   | Sog'lom hayvonlar | Nazorat guruhi  | RI    | Gepa-NOVO, 300 mg/kg | RI    | C-4, 20 mg/kg    | RI    |
|--|-------------------|-----------------|-------|----------------------|-------|------------------|-------|
| Markaziy va perefirik immun tizimi organlarida TYaH soni |                   |                 |       |                      |       |                  |       |
| Timus hujayralari, $*10^6$                               | 44,9 $\pm$ 1,7    | 20,1 $\pm$ 0,9* | -2,23 | 28,1 $\pm$ 1,3**     | +1,40 | 29,1 $\pm$ 1,2** | +1,45 |
| Ilik ko'migi hujayralari, $*10^6$                        | 11,8 $\pm$ 0,4    | 6,9 $\pm$ 0,2*  | -1,71 | 8,8 $\pm$ 0,2**      | +1,28 | 9,0 $\pm$ 0,2**  | +1,30 |
| Limfa tuguni hujayralari, $*10^6$                        | 26,3 $\pm$ 1,1    | 15,2 $\pm$ 0,4* | -1,74 | 19,0 $\pm$ 0,5**     | +1,25 | 20,7 $\pm$ 0,6** | +1,36 |
| Qonda eritrotsitlar va leykotsitlar soni                 |                   |                 |       |                      |       |                  |       |
| Eritrotsitlar, $*10^9$ /ml                               | 6,1 $\pm$ 0,2     | 3,1 $\pm$ 0,1*  | -1,97 | 3,9 $\pm$ 0,2**      | +1,26 | 4,0 $\pm$ 0,1**  | +1,29 |
| Leykotsitlar, $*10^6$ /ml                                | 8,4 $\pm$ 0,3     | 4,2 $\pm$ 0,1*  | -2,0  | 5,7 $\pm$ 0,1**      | +1,36 | 5,7 $\pm$ 0,2**  | +1,38 |

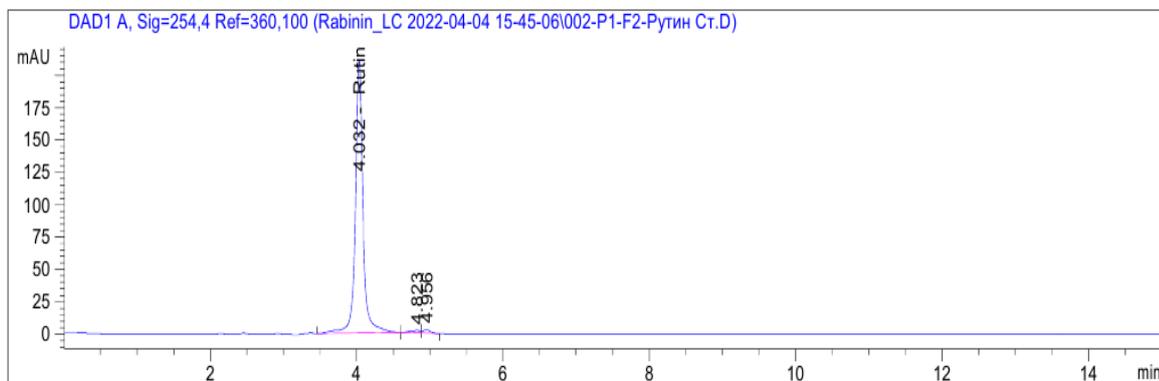
Eslatma: RI-rag'batlantirish indeksi bo'yicha: (-)-sog'lom hayvonlarga nisbatan, (+)-nazoratga nisbatan; \* -  $p < 0, 05$  – sog'lom hayvonlarga nisbatan, # -  $p < 0, 05$  – nazoratga nisbatan.

Komplekslashgan holda esa olingan kompozitsiya "dori yetkazish tizimi" sifatida tarkibidagi rutinni biotransformatsiyaga uchratmasdan, o'zgarmagan holda eksperimental hayvonlarning ichak endoteliysi orqali qonga "o'tishi"ni ta'minlaydi. Bunda rutin flavonoidining qonda paydo bo'lish vaqti kutilgan 2-4 soatdan sezilarli darajada ham kam bo'lishi kerak.

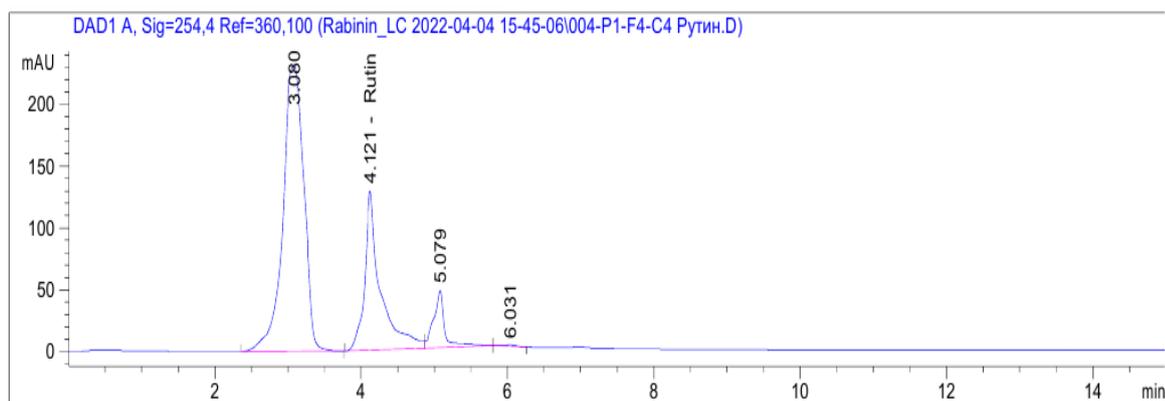
Natijada, MG:Rut:Cys:Car 4:0,5:0,5:0,5 molyar nisbatdagi kompozitsiya 2000 mg/kg ( $\frac{1}{2}$  LD<sub>50</sub>) dozada oshqozonga yuborilib 30 daqiqadan so'ng plazmadagi rutin standart rutinga (2-rasm) taqqoslangan holda YuSSX usulida aniqlandi. Bunda rutin kompozitsiya tarkibida ichak orqali biotransformatsiyaga uchramasdan o'tganligini tasdiqlaydi (3-rasm). YuSSXni Agilent Technologies 1260 (AQSh) xromatografiyada olib borildi. Xromatografik tahlil sharoitlari: kolonka- Poroshell 120 EC-C18, 2.7 mk, 4.6 x100 mm, detektor-diod matritsali detektor, elyuent-asetonitril: 0,5%li sirka kislotasi (25:75, izokratik usul), oqim tezligi-0,6 ml/min, deteksiya - 254, 265, 281 nm, kolonkaga kiritilgan miqdor - 5 mkl, termostat harorati - 30<sup>0</sup>C, tahlil vaqti - 15 daqiqa.

Holbuki, MG:Rut:Sys:Car 4:0,5:0,5:0,5 molyar nisbatdagi komponentlari ekvivalenti miqdorida alohida kiritilganda (MG - 1765,42 mg/kg, Rut - 160,40 mg/kg, Sys - 31,83 mg/kg va Car - 42,35 mg/kg), rutin 2 soatlik kuzatuvdan keyin ham qonda aniqlanmadi

Ushbu tadqiqotlar dorilarni yetkazib berish tizimini yaratish uchunlarning komplekslarini olinishi samaradorli ekanligini yana bir bor isbotlaydi, bu faol komponentlarning biologik o‘zlashtirilishini ortishiga, qo‘llaniladigan dozalarning sezilarli darajada pasayishiga (100-200 marta) va shu bilan birga yon ta’sirlarning kamayishiga olib keladi.



**2-rasm. Rutin standart na'munasining YuSSX xromatogrammasi**



**3-rasm. MG:Rut:Sys:Car 4:0,5:0,5:0,5 molyar nisbatdagi kompozitsiya 2000 mg/kg ( $\frac{1}{2}$  LD<sub>50</sub>) kiritilgandan 30 daqiqadan keyingi kalamushlar qon plazmasi YuSSX xromatogrammasi (254 nm)**

C-4 kompozitsiya ustidagi navbatdagi tajribalarda kversetin flavonoidini uning glikozidi bo‘lgan rutin bilan almashtirish va qon zardobidagi komponentlarning farmakokinetik tahlilini o‘tkazishga qaror qilindi, chunki rutin ichakda kversetin va uning hosilalari yoki gidroksifenil propion kislotalar shaklida so‘riladi.

Tadqiqotning yakuniy bosqichida komplekslashuv samaradorligini isbotlash uchun C-4 kompozitsiyasi va uning alohida olingan tarkibiy qismlarining gepatoprotektiv faolligi tadqiq qilindi. Bir qator o‘tkazilgan tajribalar davomida C-4 preparatining tarkibiy qismlari alohida-alohida, kompozitsiya tarkibidagi molyar nisbatda (4:0,5:0,5:0,5) umumiy dozasi 20 mg/kg mos keladigan dozalarda kiritilgan. Avval 18,31 mg/kg dozada MG oshqozonga yuborildi, so‘ngra 30 daqiqa o‘tgandan keyin qolgan alohida komponentlar birgalikda-kversetin, 0,82 mg/kg, DL-karnitin 0,54 mg/kg va sistein 0,33 mg/kg (1+3), bu holda kompleks hosil bo‘lish ehtimoli umuman yo‘q. Natijalar 9-jadvalda keltirilgan.

C-4 kompozitsiyasi eng faol gepatoprotektor faollik namoyon etib, uning umumiy GFK 0,998 ko'rsatkichni tashkil etdi va C-4 kompozitsiyasi barqaror ravishda yuqori faollik namoyon qildi ko'rsatkichlar namoyon etdi, bu mazkur kompozitsiya tarkibiga kiruvchi va jigarning turli funksiyalarini qayta tiklovchi turli xil faol moddalar bilan bog'liq. Aynan ushbu moddalar "yetkazib beruvchi" MG tashuvchi bo'lgan kompozitsiya shaklida hayvonlarga kiritilgan. Shu bilan birgalikda kompozitsiya tarkibidagi mazkur komponentlar alohida olinib 1+3 shaklda hayvonlarga kiritilganda natijaga olib kelmadi, C-4 komponentlarining GFK ko'rsatkichi 0,130 ni tashkil etdi. Bu natija GK va uning tuzlari asosida olingan supramolekulyar komplekslar samaradorligini va ularni qo'llash istiqbollari isbotlaydi.

Fosfogliv (Rossiya) gepatoprotektori ham samarali ekanligini ko'rsatildi (umumiy GFK=0,980), ammo preparatning dozasi 110 mg/kg ni tashkil etib, C-4 kompozitsiyasining kunlik dozasidan 5,5 baravar ko'pdir. Hayvonlar oshqozoniga kiritilgan Gepa-NOVO preparatining GFK=0,710 ko'rsatkichi yuqori darajada bo'ldi, lekin preparatning dozasi Fosfogliv dozasi kabi yuqori bo'ldi. Gepa-NOVO 300 mg/kg dozada kiritilgan sichqon organizmiga quyidagi moddalar kiradi: 26 mg/kg GK: 260 mg/kg glitsin, 13 mg/kg sistein, bu C-4 kompozitsiyasi dozasidan deyarli 15 marta ortiq.

#### 9-jadval

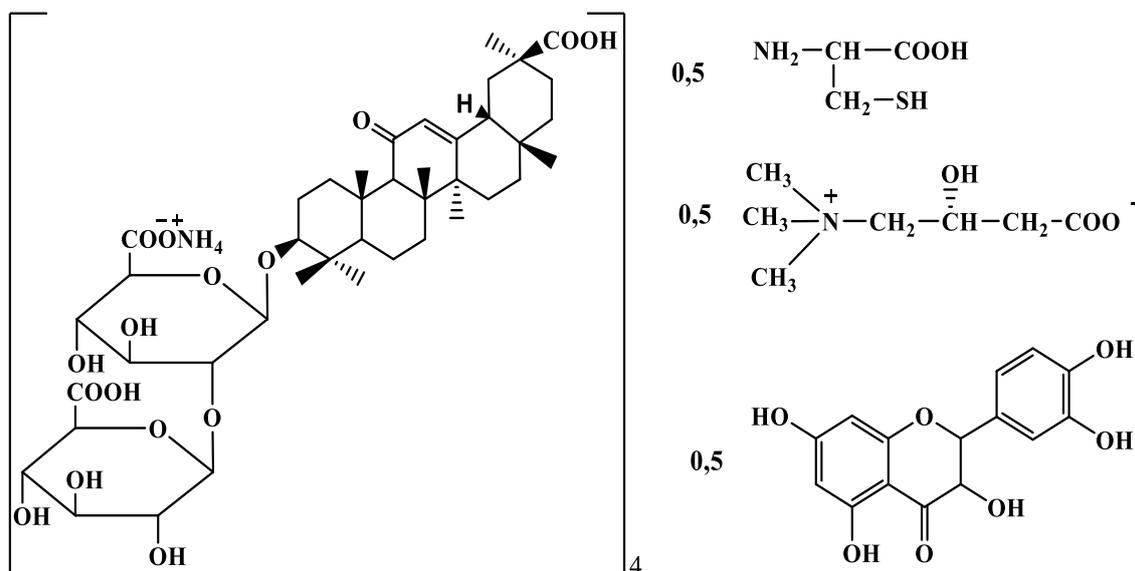
#### Sichqonlarda CCl<sub>4</sub> bilan chaqirilgan hepatit modelida C-4 kompozitsiyasi va uning komponentlarining qiyoslangan gepatoprotektor faolliklari (M±m, n=9)

| guruhlar                                 | GFK                      |                                    |                                       |   |               |
|--|--------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|---|---------------|
|  | Yashov<br>-chanlik,<br>% | Umrining<br>davomiyligi,<br>kunlar | Jigarning<br>og'irlik<br>koeffisienti | Hayvon tana<br>vaznining<br>o'zgarishi, g | Umumiy<br>GFK |
| Sog'lom hayvonlar                        | 100                      | 6                                  | 66,8±1,1                              | (+)2,2±0,3                                | 1             |
| Nazorat                                  | 40                       | 3                                  | 79,3±3,8                              | (-)1,4±0,4                                | 0             |
| C-4, 20 mg/kg                            | 100                      | 6                                  | 65,5±1,9                              | (+)1,6±0,7                                | 0,998         |
| Komponentlar alohida kiritilgan<br>(1+3) | 60                       | 4,4                                | 71,9±1,75                             | (-)4,2±0,4                                | 0,130         |
| Gepa-NOVO, 13 ml/kg<br>(300mg/kg)        | 80                       | 5,2                                | 65,7±2,7                              | (-)0,2±0,6                                | 0,710         |
| Fosfogliv, 110 mg/kg, Rossiya            | 100                      | 6                                  | 63,0±3,0                              | (+)0,6±0,4                                | 0,980         |

Xulosa qilib aytganda, tadqiqotlar davomida immunotrop, gepatoprotektor, antioksidant ta'sirlarga ega bo'lgan C-4 kompozitsiyasi (4-rasm) 10-jadval ishlab chiqildi va bu kompozitsiyaning yuqori samaradorligi, terapevtik dozasining pastligi isbotlandi, uning nisbatan arzon bo'lgan mahalliy o'simlik xomashyosidan ishlab chiqilishi iqtisodiy jihatdan qulaylik yaratadi. Shuni ham hisobga olish kerakki, dori preparatlarini uzoq vaqt qabul qilinganda, xususan, bu 2-6 oy davomida tayinlangan gepatoprotektorlarga taalluqlidir, davolanishni to'liq yakunlanishida narx-navo nuqtai nazaridan ham muhim omildir.

**Gepa-NOVO, fosfogiliv dori vositalarga nisbatan C-4 kompozitsiyasining iqtisodiy jixxatdan samaraligi, dozasi va bemorlar qabul qilishi usuli bo‘yicha qiyosiy ko‘rsatkichlar**

| Preparatlar                           | Gepa-NOVO (O‘zbekiston)  | Fosfogiliv (Rossiya)   | C-4  |
|---------------------------------------|--|--|--|
| Faol moddalar                         | 10 ml: 230 mg:<br>Glisiram - 20 mg;<br>Glisin - 200 mg;<br>L-sistein -10 mg  | 100 mg kapsula:<br>Fosfatdixolin -65 mg;<br>Natriy glisirrizinat-35 mg | 100 mg:<br>MG- 91,55 mg/kg<br>kvertsitin -4,1 mg/kg,<br>DL-karnitin -2,7 mg/kg<br>sistein – 1,65 mg/kg |
| Odamlarda tavsiya etilgan kunlik doza | 40-100 ml<br>920-2300 mg:  | 600-900 mg   | 100 mg   |
| Qabul qilish usuli                    | Vena orqali kuniga 1 mahal   | Peroral, 2-3 kapsuladan 3 mahal  | Peroral, 1 tabletka/kapsuladan 1 mahal   |
| Narxi                                 | 1 upakovka: 10 ml №10 amp., 70000 so‘m (2021)<br>10 kunga 280-700 ming so‘m<br>Xozirgi kunda chiqarilishi to‘xtatilgan Stronger NEO-MINOFAGEN C (Yaponiya)<br>1 upakovka: 20 ml №30 amp, 1800000 so‘mdan | 1 upakovka;<br>110 200 so‘mdan<br>1 oyga;<br>386-596 ming so‘m dan     |  |



4-rasm. C-4 kompozitsiyasining sxemasi

Natijada, ish jarayonida kompleks hosil qilish asosida mahalliy o‘simlik xomashyosidan 4:0,5:0,5:0,5 molyar nisbatda MG:kversetin:sistein:karnitindan iborat hepatoprotector, antioksidant, immunotrop ta’sirlarga ega bo‘lgan past dozali kompozitsiya olindi.

## XULOSALAR

1. Tadqiq qilingan glitsirrizin kislotasi monoammoniyli tuzining antioksidant birikmalar (arginin, metionin, triptofan, sistein, DL-karnitin·HCl, kversetin, rutin hamda dolchin, metoksidolchin va ferul kislotalari) bilan komplekslarining (4:1 molyar nisbatda) *in vitro* sharoitidagi antiradikal faolligi (PRAP va FRAA usulari bo'yicha) mazkur birikmalarning faolligiga nisbatan 1,5-6,5 marta ( $p<0,05$ ) ortishiga olib kelishi ko'rsatildi va metoksidolchin kislota, karnitin, metionin bilan olingan komplekslar eng faol ekanligi aniqlangan.

2. Antiradikal, gepatoprotektor, yallig'lanishga qarshi, biokimyoviy ko'rsatkichlarni tiklash, taloqda antitela hosil qiluvchi hujayralar sonini ko'paytirish va gepatotsitlarning detoksikatsiyalashini kuchaytiruvchi yuqori faollik namoyon etgan komplekslardan-glitsirrizin kislotasi monoammoniyli tuzi ning va 3 ta antioksidant asosida 4:0,5:0,5:0,5 molyar nisbatda beshta kompozitsiyalar: C-1 (MG:MethA:Sys:Que), C-2 (MG:MethA:Met:Que), C-3 (MG:Rut:Trp:Car), C-4 (MG:Car:Sys:Que), C-5 (MG:FerA:Car:Sys) olindi. Ularning zaharliligi, gepatoprotektor va immunotrop xususiyatlari *in vivo* sharoitida skrining qilinganda, ular orasida eng faol kompozitsiya C-4 ekanligi ko'rsatilgan.

3. C-4 kompozitsiyasi paratsetamol ta'sirida chaqirilgan o'tkir zaharli gepatit modelida 7 kun davomida kalamushlarga 10 mg/kg dozada kiritilganda umumiy oqsil darajasi, ALT, AST, mochevina, qonning gemostaz ko'rsatkichlarini (protrombin vaqti, qisman faollashtirilgan tromboplastin vaqti) normallashtirib, jigar og'irligi ko'rsatkichlarini fiziologik me'yor darajasiga tushirgan.

4. C-4 kompozitsiyasi 20 mg/kg dozada sichqonlar oshqozoniga yuborilganda, ikkilamchi immunitet tanqisligini tiklash orqali immunotrop faollik namoyon etgan: bunda nazoratga nisbatan butun taloqdagi antitana hosil qiluvchi hujayralar (AHH) soni 2,1 marta ( $p<0,0001$ ); 1 million splenotsitga AHH soni 1,72 marta ( $p<0,001$ ); qo'y eritrotsitlariga qarshi qondagi antitana titri 1,43 marta ( $p<0,01$ ); immunitet organlarida yadroli hujayralar soni: timusda 1,45 marta ( $p<0,001$ ); ilik ko'migida 1,3 marta ( $p<0,0001$ ); limfa tugunlarida 1,36 marta ( $p<0,0001$ ); qonda eritrotsitlar 1,29 marta ( $p<0,001$ ) va leykotsitlar soni 1,38 marta ( $p<0,0001$ ) ortganligi ko'rsatilgan.

5. Glitsirrizin kislotasi monoammoniyli tuzi bilan olingan supramolekulyar komplekslar asosida tuzilgan C-4 kompozitsiyasi "dori yetkazish tizimi" sifatida antioksidantlarda biologik o'zlashtirilishning ortishiga olib keldi, bunda kompozitsiya komponentlarining hayvonlarga alohida kiritilishi kutilgan faollikni namoyon etmadi, shuningdek C-4 kompozitsiyasining tarkibiy qismida kversetin o'rniga ekvivalent molyar miqdorda rutin kiritilganda, yangi kompozitsiya tarkibidagi rutin hayvonlar ichagida biotransformatsiyaga uchramasdan, o'zgarmagan holda qon plazmasiga o'tishi aniqlangan.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019.К/В.37.01  
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ  
БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

---

**ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**МАХМУДОВ ЛАЗИЗБЕК УМАРЖОНОВИЧ**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА  
НИЗКОДОЗОВЫХ ПРЕПАРАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ  
СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСОВ**

**02.00.10 - Биоорганическая химия**

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ  
ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

**Ташкент - 2024**

Тема диссертации доктора философии(PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером -В 2021.2.PhD/B590

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ([www.biochem.uz](http://www.biochem.uz)) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)).

**Научный руководитель:** Тагайалиева Нигора Абдунабиевна  
кандидат биологических наук, С.н.с..

**Официальные оппоненты:** Юлдашев Насиржан Мухамеджанович  
доктор биологических наук, профессор  
Абдулладжанова Нодира Гулямжоновна  
доктор химических наук, профессор

**Ведущая организация:** Андижанский Государственный Университет

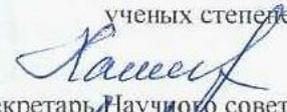
Защита диссертации состоится « 19 » ноября 2024 года в 14<sup>00</sup> часов на заседании Научного совета DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 при Институте биоорганической химии (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63).

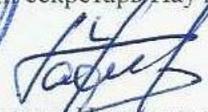
С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (зарегистрировано под № 259). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: [shsha@mail.ru](mailto:shsha@mail.ru)).

Автореферат диссертации разослан: « 12 » ноября 2024 г.  
(реестр протокола рассылки № « 1 » от 12 ноября 2024 г).



  
**Ш.И. Салихов**  
Председатель Научного совета по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

  
**Н.Р. Хашимова**  
Ученый секретарь Научного совета по присуждению ученых степеней, д.б.н.

  
**М.Б. Гафуров**  
Председатель Научного семинара при Научном совете по присуждению ученых степеней, д.х.н., профессор

## **ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))**

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В мире хронические диффузные заболевания печени (ХДЗП) остаются одной из центральных проблем глобального сообщества и здравоохранения всего мира за счет их широкой распространенности, наличия грозных осложнений (циррозы, рак), высокой смертности. Причиной патологических процессов в печени являются вирусы, экзогенные токсические вещества (алкоголь, лекарственные препараты, ксенобиотики), нарушение иммунного статуса, метаболических процессов, уменьшение физической активности населения, несбалансированный характер питания, а также генетические факторы. В настоящее время большое практическое значение имеет создание низкодозовых лекарственных средств с высокой биологической доступностью, пролонгированным действием, низкой токсичностью и таргетным механизмом действия.

В мире сегодня ведутся исследования в области нанофармакологии, в которых используются системы доставки лекарств в виде наночастиц различной природы. В связи с этим для лечения заболеваний печени различной этиологии особое внимание уделяется созданию новых, эффективных лекарственных средств на основе комплексов биологически активных веществ ("гостевых" молекул) с противовирусными, детоксикационными, иммунотропными, гепатопротекторными свойствами с носителями ("хозяевами").

В нашей республике особое внимание уделяется разработке экономически доступных лекарственных средств на основе местного растительного сырья для обеспечения населения качественными лекарственными средствами. В 4-м направлении Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены важные задачи в контексте «Дальнейшее развитие фармацевтической промышленности, улучшение снабжения населения доступными, качественными лекарственными средствами и медицинскими учреждениями»<sup>1</sup>. В этой области важно создать безопасные низкодозированные препараты, сохраняющие в одном препарате гепатопротекторные, антиоксидантные.

Данное научное исследование служит решению задач, определенных в Указе Президента Республики Узбекистан от 21 января 2022 года № УП-55 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2022-2026 годах», Указе Президента РУз №139 от 20 мая 2022 года «О мерах по созданию цепочки добавленной стоимости посредством эффективного использования сырьевой базы и поддержки переработки лекарственных растений», где определено «размещение БАД и лекарственных средств, изготовленных из лекарственного растительного

---

<sup>1</sup> Указ Президента Республики Узбекистан, от 07.02.2017 г. № УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

сырья, минимум в 10 процентах прилавков торговых залов аптек”, а также в других нормативно-правовых документах, принятых в этой сфере.

**Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан.** Данное диссертационное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики VI. «Медицина и фармакология».

**Степень изученности проблемы.** На сегодняшний день в мире во многих мировых научных центрах ведутся исследования по повышению биодоступности препаратов и разработке таргетной терапии. В том числе ученые под руководством Li G. F. показали, что ГК обладает сильной солубилизирующей способностью для некоторых труднорастворимых соединений, таких как цитостатические препараты паклитаксел, подофиллотоксин, гидроксикамтотетин, изохинолиновый алкалоид берберин и др., что приводит к увеличению их биодоступности и снижению токсичности. Radwant M. A., Aboul-Enein H. Y. и соавторы применяли ГК для усиления всасывания наносфер с инсулином, при этом инсулин, связанный с наносферами, сохранял свою биологическую активность до 12 дней у 50% крыс.

В странах СНГ, в частности, в России под руководством Толстикова Г. А., Салахутдинова Н. Ф., Полякова Н. Е., Селютиной О. Ю. интенсивно изучается механизм комплексообразования ГК с плохорастворимыми препаратами, на примере с лаптаконитином, нифедипином, каротиноидами, зеаксантином,  $\beta$ -каротином.

В нашей республике из ГК и ее производных, в частности, моноаммониевой соли ГК (monoammonium glycyrrhizinate, MG), также получены комплексы типа "гость-хозяин" с труднорастворимыми в воде лекарственными средствами. Так, в Институте биоорганической химии АН РУз им. Садыкова А. С. под руководством д. х. н., проф. Д. Н. Далимова, д. х. н., проф. М. Б. Гафурова, д. х. н., проф. А. Д. Матчанова ГК, получаемая из корня солодки голой, *Glycyrrhiza glabra*, и ее моноаммониевая соль применены для получения комплексов с плохорастворимыми препаратами, такими как преднизолон (Глипред), ацетилсалициловая кислота (ГЛАС), изониазид (Туглизид), мегосин (Мегаферон), лагохилин (Глилагин). В Институте биоорганической химии продолжаются исследования по созданию низкодозированных препаратов на основе супрамолекулярных комплексов.

**Связь диссертационной работы с тематическими планами НИР.** Диссертационное исследование выполнено в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ Института биоорганической химии в рамках прикладного проекта А-ФА-2019-35 «Создание иммуностропных средств на основе местного растительного сырья» (06. 2019-05. 2022).

**Цель работы:** определить биологическую активность низкодозовой композиции с гепатопротекторными свойствами, полученной на основе

супрамолекулярных комплексов из местного растительного сырья (солодка голая, *Glycyrrhiza glabra*, софора японская, *Sophora japonica*).

**Задачи исследования** заключаются в следующем:

оценить антирадикальную активность в условиях *in vitro* комплексных соединений МГ с антиоксидантами различной природы (флавоноидами, фенольными кислотами и аминокислотами).

провести скрининг токсикологических свойств, гепатопротекторной, желчегонной активности супрамолекулярных комплексов МГ с флавоноидами, фенольными кислотами, аминокислотами в условиях *in vivo*;

отобрать эффективные комплексы согласно анализу результатов *in vitro* и *in vivo* исследований и на их основе подготовить варианты многокомпонентных композиций, состоящих из МГ и 3 антиоксидантов.

отобрать высокоэффективную композицию на основе данных по токсичности, гепатопротекторным и иммуностропным свойствам полученных композиций и сравнить ее с отечественными и зарубежными гепатопротекторными лекарственными средствами;

доказать в экспериментальных моделях *in vivo*, с использованием инструментальных методов, что повышение биодоступности компонентов композиции обусловлено с комплексообразованием.

**Объектом исследования являются** моноаммонийная соль ГК (МГ), аминокислоты (аргинин (Arg), метионин (Met), триптофан (Trp), цистеин (Cys), DL-карнитин·HCl (Car); флавоноиды: кверцетин (Que), рутин (Rut); фенольные кислоты (коричная (CinA), метоксикоричная (MethA), феруловая (FerA) кислоты), супрамолекулярные комплексы и композиции, лабораторные животные (мыши, крысы), кровь, органы.

**Предметом исследования** явилось определение для супрамолекулярных комплексов и композиций антирадикального действия в условиях *in vitro*, гепатопротекторного, иммуностропного действия на модели острого гепатита в условиях *in vivo*; токсического влияния, желчегонного действия в условиях физиологической нормы.

**Методы исследования.** В исследовательской работе были использованы физико-химические, биологические, биохимические, фармакологические, иммунологические методы.

**Научная новизна** исследования заключается в следующем:

определено увеличение в 1,6-6,5 раза антирадикальной активности антиоксидантов аргинин, метионин, триптофан, цистеин, DL-карнитин HCl, кверцетин, рутин, коричной, метоксикоричной и феруловой кислот при переходе в комплексы с МГ в условиях *in vitro*;

впервые для супрамолекулярных комплексов МГ с метоксикоричной кислотой, метионином, кверцетином установлена высокая степень гепатопротекторной активности; для комплексов с карнитином, цистеином – значимые противовоспалительные свойства; для комплексов с кверцетином, карнитином – нормализация биохимических параметров в крови на фоне

гепатита; для комплексов с метоксикоричной кислотой, метионином – усиление детоксикационной активности гепатоцитов;

впервые при исследовании специфической активности 5 композиций в молярном соотношении 4:0,5:0,5:0,5: MG:MA:Cys:Que (C-1), MG:MA:Met:Que (C-2), MG:Rut:Trp:Car (C-3), MG:Car:Cys:Que (C-4), MG:FerA:Car:Cys (C-5) обоснованы наибольшие гепатопротекторные, иммуностропные свойства композиции C-4;

выявлена низкая токсичность всех изученных комплексов и композиций при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении;

доказана в экспериментах *in vivo* потеря гепатопротекторной активности компонентов композиции C-4 (MG, карнитина, кверцетина, цистеина) при их раздельном введении в эквивалентных дозах;

обосновано, что при замене в составе композиции C-4 кверцетина на рутин в эквивалентном молярном соотношении, рутин в составе новой композиции переходит в плазму крови без биотрансформации в кишечнике животных в неизмененном виде.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

на примере C-4 обоснована возможность получения многокомпонентных композиций с высокой биологической активностью на основе MG;

определено, что композиция C-4, полученная на основе местного растительного сырья, превосходит гепатопротекторный препарат Гепано-NOVO, используемый в медицинской практике, по гепатопротекторной, иммуностропной активности.

**Достоверность результатов** исследования подтверждается тем, что экспериментальные данные получены с использованием современных биохимических, гематологических и фармакологических методов и обработаны соответствующими статистическими методами, практической значимостью этих результатов, обсуждением их на национальных и международных научных конференциях, опубликованием в престижных научных журналах.

**Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Научная значимость исследования заключается в том, что определены: увеличение антирадикальной активности в условиях *in vitro* аминокислот и полифенолов при переходе в комплексы с MG в 1,6-6,5 раза; наличие высокой гепатопротекторной активности у комплексов MG с Met, MethA, Que и выраженной противовоспалительной активности у комплексов MG с Car, Cys; нормализация биохимических показателей крови в условиях гепатита у комплексов MG с Car, Que, повышение детоксикационной активности клеток печени у комплексов MG с Met, MethA.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что композиции C-4 обладая более эффективным гепатопротекторным, иммуностропным действием, чем гепатопротекторный препарат Гепано-NOVO

дает возможность на модели острого токсического гепатита позволяет нормализовать уровень общего белка, АЛТ, АСТ, мочевины, показатели гемостаза крови (протромбиновое время, частично активированное тромбопластиновое время), снизить показатели массы печени до физиологической нормы и служат созданию безопасных препаратов с гепатопротекторными, антиоксидантными, иммуностропными свойствами в одном препарате.

**Внедрение результатов исследования.** На основании полученных научных результатов по разработанной из местного растительного сырья композиции С-4 с гепатопротекторными, антиоксидантными, иммуностропными свойствами:

результаты исследований по биологической активности композиции С-4 использованы при определении гепатопротекторных свойств у диазоиминовых производных госсипола в ходе выполнения фундаментального проекта на тему "Выделение биологически активных соединений из растений, выделение индивидуальных соединений и на их основе проведение синтеза новых производных, исследование их физико-химических и спектральных свойств, а также биологической активности" (Справка Академии Наук Республики Узбекистан № 4/1255-2097 от 3 октября 2023 г.). В результате было доказано наличие у диазоиминовых производных госсипола регуляторных свойств на клетки иммунной системы и печени;

композиция С-4 (20 мг/кг) наряду с фармакопейным препаратом Фосфоглив (Россия) была использована в качестве препарата сравнения при лечении острого токсического гепатита и его осложнений у мышей соединениями, выделенными из лекарственных растений *Brassica rapa*, *Nigella sativa*, *Sambucus nigra* при выполнении фундаментального проекта на тему "Структурно-функциональные исследования биологически активных соединений, изучение механизма действия и конструирование высокоэффективных лекарственных средств и диагностикумов" (Справка Академии Наук Республики Узбекистан № 4/1255-2096 от 3 октября 2023 г.). В результате было доказано, что вещества, полученные из лекарственных растений *Brassica rapa*, *Nigella sativa*, *Sambucus nigra*, обладают свойствами регенерировать клетки печени и стимулировать иммунную систему;

композиция на основе моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты была использована в проекте отделение Биофизики, Факультет Медицины, Департамент Биохимии и Молекулярной биологии, Автономного Университета Барселоны для изучения новых систем доставки лекарств при оценке связи окислительного стресса в организме с гепатопротекцией (Справка от 24 мая 2024 г.). В результате выявлено увеличение биодоступности образующихся комплексов.

**Апробация результатов исследования.** Результаты данного исследования обсуждались на 18 научно-практических конференциях, в том

числе 4 международных и 14 республиканских.

**Опубликованность результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 25 научные работы, в том числе 7 статей: 5 в республиканских и 2 в зарубежных журналах, рекомендованных ВАК РУз для публикации основных результатов, а также в 4 международных и 14 республиканских сборниках научных конференций.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 107 страниц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** представлены актуальность и востребованность, цель и задачи, описаны объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан. Описаны научная новизна и практические результаты исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, раскрыты основы внедрения результатов исследования, представлены опубликованные научные работы и данные о структурном построении диссертации.

В первой главе диссертации **«Гепатопротекторы, профилактика, лечение и предотвращение тяжелых осложнений гепатитов»** представлен анализ современной научной литературы по проблеме гепатитов различной этиологии, их осложнениям и возможным путям коррекции данной патологии, в том числе и растительными препаратами. В частности, раскрыты молекулярные механизмы гепатопротекторных свойств глицирризиновой кислоты из солодки голой и перспективы использования ее способности к комплексообразованию (самоагрегация в супрамолекулярные комплексы), позволяющей получать препараты на основе системы доставки лекарств для биологически активных соединений, в том числе и с высокими антиоксидантными свойствами: аминокислотами (метионин, цистеин, триптофан, аргинин, L-карнитин; флавоноидами (рутин, кверцетин) и фенольными кислотами (коричная, метоксикоричная и феруловая кислоты).

Во второй главе диссертации **«Современные модели и методы разработки гепатопротекторов»** представлены сведения по использованным в ходе решения поставленных задач материалам и методам. Подробно описаны примененные современные методы *in vitro* анализа по определению антирадикальной активности, *in vivo* модели острого токсического гепатитов для изучения нарушений функции печени (детоксикационная, синтетическая, антоксидантная, иммунологическая и др.), для раскрытия структурно-функциональной зависимости исследуемых комплексов и композиций, а также фармако-токсикологические методы для оценки их безопасности и желчегонных свойств. Представлены расчеты доз

исследуемых соединений (комплексов, композиций) и препаратов сравнения с учетом вида экспериментальных животных и модели исследования.

Третья глава «Супрамолекулярные комплексы, их физико-химическая и биологическая характеристика» посвящена изучению 10 комплексов моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты (MG) с антиоксидантами (аминокислоты: аргинин (Arg), метионин (Met), триптофан (Trp), цистеин (Cys), DL-карнитин·HCl (Car) и фенольные соединения: кверцетин (Que), рутин (Rut), коричная (CinA), метоксикоричная (MethA) и феруловая (FerA) кислоты) в молярном соотношении 4:1 (рис. 1).

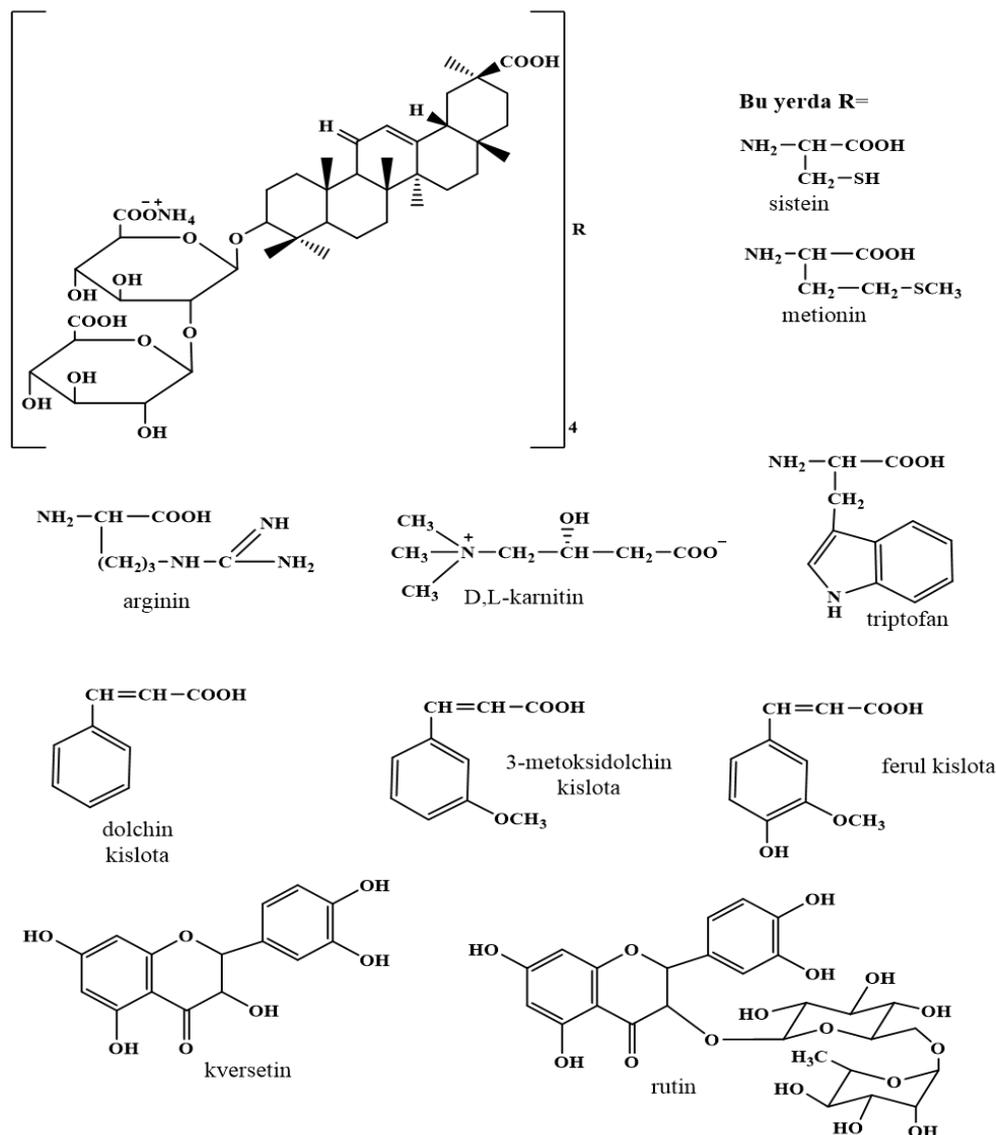


Рис. 1. Схема супрамолекулярных комплексов MG

Изучение антирадикальной активности (АРА) полученных комплексов, *in vitro*, проводили в сравнении с антиоксидантами и MG. АРА антиоксидантов убывала в ряду: Rut>Que>MethA>Arg>FerA и др.; комплексообразование всех изученных антиоксидантов приводит к увеличению АРА в 1,5–6,5 раз ( $p < 0,05$ ), убывающей в ряду MG: MethA > MG:Car > MG:Met > MG:Arg > MG:Trp и др. (табл. 1).

Таблица 1

**Сравнительная антирадикальная активность супрмолекулярных комплексов и индивидуальных соединений**

| Соединения | IC <sub>50</sub> соединений, мг/л | IC <sub>50</sub> комплексов, мг/л | Комплексы относительно индивидуальных соединений |                                   |
|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--|-----------------------------------|
|            |                                   |                                   | Степень роста АРА                                | Степень снижения массы соединения |
| PRAA метод |                                   |                                   |  |                                   |
| MethA      | 1,72±0,05***                      | 0,52±0,02###                      | 3,3  | 65,6                              |
| Car        | 3,47±0,10****                     | 0,53±0,02##                       | 6,5  | 143,0                             |
| Met        | 2,58±0,08***                      | 0,56±0,02##                       | 4,6  | 108,4                             |
| Arg        | 1,89±0,05***                      | 0,59±0,02###                      | 3,2  | 65,0                              |
| Trp        | 2,35±0,07***                      | 0,68±0,02###                      | 3,5  | 60,3                              |
| FerA       | 2,06±0,06***                      | 0,72±0,02###                      | 2,9  | 52,4                              |
| CinA       | 2,27±0,07***                      | 0,93±0,03###                      | 2,4  | 68,8                              |
| Que        | 1,68±0,05**                       | 1,13±0,03###                      | 1,5  | 18,0                              |
| Rut        | 1,58±0,05*                        | 1,26±0,03###                      | 1,3  | 8,2                               |
| Cys        | 3,56±0,10***                      | 1,72±0,05#                        | 2,1  | 59,6                              |
| MG         | 4,45±0,13                         |                                   |  |                                   |
| FRAP метод |                                   |                                   |  |                                   |
| MethA      | 0,82±0,02***                      | 0,25±0,01###                      | 3,3  | 65,1                              |
| Car        | 1,65±0,05***                      | 0,25±0,01##                       | 6,6  | 144,1                             |
| Met        | 1,23±0,03****                     | 0,25±0,01###                      | 4,9  | 115,8                             |
| Arg        | 0,90±0,03***                      | 0,28±0,01###                      | 3,2  | 65,2                              |
| Trp        | 1,12±0,03***                      | 0,32±0,01###                      | 3,5  | 61,1                              |
| FerA       | 0,98±0,03***                      | 0,34±0,01###                      | 2,9  | 52,8                              |
| CinA       | 1,08±0,03***                      | 0,44±0,01###                      | 2,5  | 58,2                              |
| Rut        | 0,75±0,02**                       | 0,45±0,01###                      | 1,7  | 10,8                              |
| Que        | 0,80±0,02**                       | 0,54±0,02###                      | 1,5  | 18,0                              |
| Cys        | 1,54±0,05***                      | 0,55±0,02##                       | 2,8  | 80,5                              |
| MG         | 2,12±0,06                         |                                   |  |                                   |

Примечание: \* - p<0,05, \*\* - p<0,01, \*\*\* - p<0,001, \*\*\*\* - p<0,0001 – значимость различий комплексов с индивидуальными веществами; # - p<0,05, ## - p<0,01, ### - p<0,001 значимость различий комплексов с моноаммония глицирризинатом.

В то же время необходимо отметить, что, исходя из теоретических расчетов, при эквивалентной активности антиоксидантов и их комплексов наблюдается значительное снижение массы антиоксиданта в составе комплекса. При этом было замечено, что количество флавоноидов в комплексе уменьшилось в 10-20 раз, количество фенольных кислот - в 50-70 раз, а количество аминокислот - в 60-150 раз (табл. 1).

Общее действие и острую токсичность комплексов определяли на мышах при однократном внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении. Все комплексы при внутрижелудочном введении составили VI класс «относительно безвредных соединений». При внутрибрюшинном введении MG:Car, MG:Cys и MG:MethA составили VI класс относительно безвредных

соединений, остальные - V класс «практически нетоксичных соединений». Наименее токсичными оказались комплексы MG:Car, MG:Cys и MG:MethA.

Скрининг желчегонной активности супрамолекулярных комплексов у интактных крыс показал отсутствие статистически значимых различий между введенными препаратами, но при этом все препараты показали слабый желчегонный эффект.

Скрининг гепатопротекторной активности (ГПА) супрамолекулярных комплексов при введении внутривентрикулярно в дозе 5 мг/кг на модели токсического гепатита, вызванного CCl<sub>4</sub> у мышей *in vivo*, проведен по 1) выживаемости (%), 2) длительности жизни мышей (дни), 3) весовому коэффициенту печени с определением суммарного коэффициента гепатопротекторной активности (КГА) (табл. 2). Наибольший уровень детоксикации животных с достижением 100%-ной выживаемости происходил на фоне MG:MethA, MG:Met, MG:Que.

**Таблица 2**

**Гепатопротективная активность исследуемых супрамолекулярных комплексов в дозе 5 мг/кг у мышей с CCl<sub>4</sub>-индуцированным гепатитом *in vivo* (M±m, n=4)**

|  | Выживаемость мышей, % | Длительность жизни мышей, дни | Весовой коэффициент печени | Суммарный КГА |
|--|-----------------------|-------------------------------|----------------------------|---------------|
| Интактные животные   | 100                   | -                             | 4,60±0,26                  | 1             |
| Контрольная группа   | 25                    | 1±0,2                         | 7,41±0,68                  | 0             |
| Высокая степень гепатопротекторной активности:             |                       |                               |                            |               |
| MG:MethA   | 100                   | -                             | 5,80±0,24                  | 0,86          |
| MG:Met   | 100                   | -                             | 6,00±0,46                  | 0,83          |
| MG:Que   | 100                   | -                             | 6,34±0,51                  | 0,79          |
| Средняя степень гепатопротекторной активности:             |                       |                               |                            |               |
| MG:Rut   | 50                    | 5±0,3*                        | 6±0,49                     | 0,54          |
| MG:Car   | 50                    | 1,5±0,1                       | 4,75±0,39*                 | 0,46          |
| MG:FerA  | 75                    | 1                             | 5,74±0,34                  | 0,42          |
| Относительно низкая степень гепатопротекторной активности: |                       |                               |                            |               |
| MG:Arg   | 75                    | 2*                            | 6,73±0,48                  | 0,37          |
| MG:Cys   | 25                    | 2±0,2*                        | 5,16±0,36*                 | 0,33          |
| MG:Trp   | 50                    | 2±0,2*                        | 6,20±0,53                  | 0,32          |
| MG:CinA  | 75                    | 1                             | 7,28±0,55                  | 0,24          |

Примечание: \*- p<0,05 относительно контроля.

Таким образом, при однократном внутривентрикулярном введении в дозе 5 мг/кг мышам с CCl<sub>4</sub>-индуцированным гепатитом *in vivo* комплексы MG:MethA, MG:Met, MG:Que проявили высокую степень ГПА, MG:Rut, MG:Car, MG:FerA – среднюю степень активности. Введение комплексов MG:Car и MG:Cys приводит к снижению весовых коэффициентов печени в среднем на 35 и 30%, соответственно (p<0,05 относительно контроля).

Для дальнейших исследований по изученным показателям (острая токсичность, АРА, ГПА) отобраны MG:MethA, MG:Met, MG:Que и MG:Car.

Сравнительный анализ биологической активности MG:MethA, MG:Met, MG:Que и MG:Car проводили в дозах 2,5 и 5 мг/кг на модели острого токсического гепатита (ОТГ), вызванного парацетамолом у крыс по ряду показателей в сравнении с препаратом сравнения Гепа-NOVO в дозе 150 мг/кг. По оценке биохимических показателей крови (ферменты АЛТ, АСТ, глюкоза, билирубин, общий холестерин, мочевины, общий белок) при ранжировании по баллам определены два перспективных комплекса: MG:Car и MG:Que, комплексы оказались самыми эффективными при усилении репаративных процессов в гепатоцитах на фоне токсического воспаления, а также при восстановлении показателей гемостаза. В восстановлении детоксикационной функции гепатоцитов (в соответствии с сокращением времени гексеналового и барбитуратового сна) проявили активность комплексы MG:Met и MG:MethA. Обобщенные сведения по результатам исследований комплексных соединений в условиях *in vitro* и *in vivo* представлены в табл. 3.

**Таблица 3**

**Отобранные комплексы по показателям биологической активности**

| Модель  | Показатели   | Комплексы                                |
|---|--|--|
| Модель <i>in vitro</i>  | Антирадикальная активность (PRAA, FRAP методы)               | MG:MethA, MG:Car, MG:Met, MG:Arg, MG:Trp |
| Модель острого токсического гепатита, вызванного CCl <sub>4</sub> | Высокая степень гепатопротекторной активности                | MG:MethA, MG:Met, MG:Que                 |
|   | Средняя степень гепатопротекторной активности                | MG:Rut MG:Car, MG:FerA                   |
|   | Противовоспалительные свойства                               | MG:Car, MG:Cys                           |
| Парацетамолли гепатит модели                                      | Репарация гепатоцитов (АЛТ, АСТ, ОХ, ОБ, БЛН, ГЛК, мочевины) | MG:Car, MG:Que                           |
|   | Восстановление показателей гемостаза (ПВ, АЧТВ, фибриноген)  | MG:Car, MG:Que                           |
|   | Детоксикационная активность гепатоцитов                      | MG:MethA, MG:Met                         |
| Острая токсичность  | Среднелетальная доза ЛД <sub>50</sub>                        | MG:Car, MG:Cys, MG:MethA                 |

Эти результаты показали необходимость совмещения нескольких компонентов с различными эффектами в одной композиции: моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты в качестве носителя и 3 антиоксиданта в качестве «гостевых» молекул.

В четвертой главе «**Композиции на основе супрамолекулярных комплексов**» были изучены 5 композиций С-1 (MG:MethA:Cys:Que), С-2 (MG:MethA:Met:Que), С-3 (MG:Rut:Trp:Car), С-4 (MG:Car:Cys:Que) и С-5 (MG:FerA:Car:Cys) в молярном соотношении 4:0,5:0,5:0,5. Изучение острой токсичности композиций показало, что при внутривенном введении они

относятся к VI классу токсичности (относительно безвредные соединения). Средняя летальная доза ЛД<sub>50</sub> при внутрибрюшинном введении мышам составила 708-1200 мг/кг, класс токсичности V (практически нетоксичные соединения). Наименьшая острая токсичность при внутрибрюшинном введении была у препарата С-4, где ЛД<sub>50</sub> составила 1200 мг/кг (табл. 4). Лучшая гепатопротекторная активность показана для композиции С-4 в дозе 10 мг/кг. Несколько ниже эффект композиции С-3 в той же дозе. Для дальнейших исследований иммуностропной активности из 5 комплексов были отобраны 4 комплекса, с проявленной гепатопротекторной активностью: С-1, С-2, С-3 и С-4.

**Таблица 4**

**Гепатопротекторная активность исследуемых композиций на модели острого токсического гепатита, вызванного ССl<sub>4</sub> у мышей (M±m, n=9)**

| Группы        | Выживаемость мышей (%) | Длительность жизни погибших мышей (дни) | Весовой коэффициент печени | КГА   |
|---------------|------------------------|---|----------------------------|-------|
| Интактные     | 100                    | -                                       | 4,60±0,26                  | 1     |
| Контрольные   | 11,1                   | 3,22±0,52                               | 8,4±0,68*                  | 0     |
| С-4, 10 мг/кг | 66,7                   | 4,78±0,62                               | 7,60±0,24*                 | 0,58  |
| С-3, 10 мг/кг | 55,6                   | 4,44±0,63                               | 7,40±0,46*                 | 0,464 |
| С-1, 10 мг/кг | 44,4                   | 4,33±0,67                               | 6,2±0,39*#                 | 0,384 |
| С-2, 10 мг/кг | 22,2                   | 4±0,47                                  | 7,00±0,36*                 | 0,205 |
| С-5, 10 мг/кг | 33,3                   | 3,33±0,62                               | 7,6±0,49*                  | 0,143 |

Скрининг гепатопротекторной активности композиций проводили на модели острого токсического гепатита, вызванного ССl<sub>4</sub> у мышей.

Скрининг иммуностропной активности отобранных композиций в условиях физиологической нормы показал, что наибольшей иммуностимулирующей активностью в сравнении с Гепа-NOVO обладают препарат С-1 в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг и препарат С-4 в дозе 2,5 мг/кг (табл. 5).

В итоге на основании двух экспериментов в ходе скрининга гепатопротекторной и иммуностропной активности, а также на основании показателей острой токсичности композиций для дальнейших исследований выбрана композиция С-4. Однако, следует отметить, что для комплексов, состоящих из 2 компонентов, МG:MethA; МG:Met; МG:Que, ранее была показана высокая степень гепатопротекторной активности (КГА 0,7 и выше), тогда как для композиций (С-4 и С-3) – средняя степень гепатопротекторной активности, поэтому мы предполагаем, что в композициях, состоящих из носителя и 3 компонентов, доля компонентов уменьшается в 3 раза, что приводит к уменьшению эффекта от лечения. В связи, с чем дальнейшие исследования решено направить на определение терапевтической дозы композиции С-4 (табл. 6). Определение терапевтической дозы композиции С-4 провели на модели острого гепатита в двух дозах: 5 и 10 мг/кг. При изучении гепатопротекторной активности на модели острого токсического

гепатита, вызванного парацетамолом у крыс, композиция С-4 в дозе 10 мг/кг оказалась наиболее эффективной, даже по сравнению с Гепа-NOVO. При этом повреждения в гепатоцитах, вызванные токсическим действием высоких доз парацетамола, восстанавливались – ферменты АЛТ и АСТ опускались до нормальных единиц, а также возобновлялась синтетическая функция печени – показатели гемостаза возвращались к интактному уровню.

**Таблица 5**

**Влияние композиций на иммунный ответ к эритроцитам барана (M±m, n=5)**

| Группы    | Доза, мг/кг | Вес селезенки, мг | ИС    | Число ЯСКС ×10 <sup>6</sup> | ИС   | АОК на всю селезенку | ИС   |
|-----------|-------------|-------------------|-------|-----------------------------|------|----------------------|------|
| Контроль  |             | 170,4±2,96        | -     | 28,8±3,74                   | -    | 1440,0±187,3         | -    |
| Гепа-NOVO | 150 мг/кг   | 186,6±4,41        | 2,59  | 59,2±6,32**                 | 2,05 | 2960,0±316,4**       | 2,05 |
| С-1       | 1,25        | 128,2±1,45        | -0,75 | 45,8±4,81*                  | 1,59 | 2290,0±240,5*        | 1,59 |
|           | 2,5         | 154,8±2,51        | -0,9  | 58,8±8,20**                 | 2,04 | 2940,0±46,5**        | 2,04 |
|           | 5           | 164,2±1,60        | -0,96 | 62,4±7,04*                  | 2,23 | 3120,0±352,4**       | 2,16 |
| С-2       | 1,25        | 155,2±8,81        | -0,91 | 41,8±5,42                   | 1,45 | 2090,0±271,3         | 1,45 |
|           | 2,5         | 181,4±1,68        | 2,56  | 53,4±8,65*                  | 1,85 | 2670,0±432,6*        | 1,85 |
|           | 5           | 181,2±2,16        | 1,66  | 39,0±6,80                   | 1,35 | 1950,0±340,2         | 1,35 |
| С-3       | 1,25        | 130,4±2,62        | -0,76 | 47,0±3,14**                 | 1,63 | 2350,0±157,3**       | 1,63 |
|           | 2,5         | 168,0±1,99        | -0,98 | 52,4±4,35***                | 1,82 | 2632,0±220,5*        | 1,87 |
|           | 5           | 105,0±4,44        | -0,61 | 39,2±2,56**                 | 1,36 | 1960,0±53,4*         | 1,36 |
| С-4       | 1,25        | 96,4±1,33         | -0,56 | 42,8±1,90*                  | 1,48 | 2140,0±95,3*         | 1,48 |
|           | 2,5         | 151,4±4,29        | -0,88 | 58,8±5,51**                 | 2,04 | 2940,0±275,9**       | 2,04 |
|           | 5           | 116,6±1,45        | -0,68 | 39,0±3,89                   | 1,35 | 1950,0±194,9         | 1,35 |

Примечание: АОК - антителообразующие клетки, ЯСКС - ядросодержащие клетки селезенки, ИС - индекс стимуляции, \* - p<0,05, \*\* - p<0,01 и \*\*\* - p<0,001 по отношению к контролю.

**Таблица 6**

**Гепатопротекторная активность композиции С-4 на модели острого токсического гепатита, вызванного парацетамолом у крыс (M±m, n=5)**

| Показатели           | Интактный уровень | Контроль     | Гепа-NOVO, 150 мг/кг | С-4          |               |
|----------------------|-------------------|--------------|----------------------|--------------|---------------|
|                      |                   |              |                      | 5 мг/кг      | 10 г/кг       |
| Печеночные пробы     |                   |              |                      |              |               |
| Общий белок, г/л     | 61,6 ± 2,6        | 53,3 ± 1,6*  | 63,5 ± 3,5#          | 53,6 ± 2,8*  | 63,0 ± 1,6#   |
| АЛТ, ЕД/л            | 39,4 ± 4,7        | 61,7 ± 14,4* | 40,5 ± 4,3#          | 56,6 ± 3,0*+ | 41,5 ± 3,8#   |
| АСТ, ЕД/л            | 33,0 ± 4,1        | 51,7 ± 12,5* | 38,5 ± 4,9#          | 40,1 ± 2,4#  | 36,2 ± 5,3#   |
| Мочевина, ммоль/л    | 4,4 ± 0,4         | 2,5 ± 0,6*   | 4,4 ± 0,5#           | 5,3 ± 0,1#   | 5,0 ± 0,2#    |
| Показатели гемостаза |                   |              |                      |              |               |
| ПВ, сек              | 23,1±1,2          | 78,7±4,5*    | 18,7±1,6#            | 50,5±3,5*##+ | 22±1,4#       |
| АЧТВ, сек            | 29,0±1,1          | 145,7±12,0*  | 46,4±2,8*#           | 29,3±1,3##+  | 27,4±1,1##+   |
| Фибриноген, мг/дл    | 400±26,0          | 256,5±26,0*  | 267,5±14,7*          | 475±28,0##+  | 406,5±26,4##+ |

Примечание: \* p<0,05 относительно интактного уровня, # p<0,05 относительно контроля, + p<0,05 относительно показателей Гепа-NOVO.

Таким образом, в этой серии исследований по определению терапевтической дозы композиции С-4 у крыс установлена эффективность введения С-4 в дозе 10 мг/кг (для мышей – 20 мг/кг).

Следующий этап исследований заключался в изучении иммуотропных свойств композиции С-4 на модели вторичного иммунодефицита на фоне токсического гепатита при введении  $CCl_4$ . Как известно, печень является ключевой, передовой иммунной тканью, которая участвует в обезвреживании попадающих через кишечник бактерий, вирусов и макромолекул, синтезе белков острой фазы, антител, белков системы комплемента, цитокинов/интерлейкинов и др.

Иммуотропную активность композиции С-4 изучали на модели острого токсического гепатита у мышей, вызванного введением  $CCl_4$ , после 5-ти дневного лечения. Оценку влияния композиции С-4 в дозе 20 мг/кг (в пересчете 10 мг/кг для крыс) и препарата Гепато-NOVO в дозе 300 мг/кг на гуморальный иммунитет мышей с ОТГ проводили по 1) числу антителообразующих клеток (АОК) в селезенке в ответ на эритроциты барана (ЭБ); 2) числу ядросодержащих клеток селезенки (ЯСКС), 3) титру антител к эритроцитам барана в сыворотке крови (табл. 7).

**Таблица 7**

**Влияние композиции С-4 на гуморальный иммунитет мышей на фоне вторичного иммунодефицита ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

| Показатели  | Интактная группа | Контроль      | ИС   | Гепато-NOVO, 300 мг/кг | ИС   | С-4, 20 мг/кг    | ИС   |
|---|------------------|---------------|------|------------------------|------|------------------|------|
| АОК в селезенке                                     |                  |               |      |                        |      |                  |      |
| ЯСКС, * $10^6$                                      | 170,9 ± 4,0      | 105,6 ± 2,6*  | -1,6 | 128,2 ± 2,9*#          | +1,2 | 129,5 ± 2,9*#    | +1,2 |
| АОК на селезенку                                    | 5356,3 ± 310,7   | 912,5 ± 54,9* | -5,9 | 1737,5 ± 103,8*#       | +1,9 | 1918,8 ± 113,4*# | +2,1 |
| Количество АОК на $10^6$ ЯСКС                       | 31,4 ± 1,7       | 8,6 ± 0,5*    | -3,7 | 13,6 ± 0,8*#           | +1,6 | 14,8 ± 0,8*#     | +1,7 |
| Титр антител к эритроцитам барана в сыворотке крови |                  |               |      |                        |      |                  |      |
| Титр антител ( $\log_2$ )                           | 4,8 ± 0,3        | 2,1 ± 0,1*    | -2,3 | 3,0 ± 0,2*#            | +1,4 | 2,9 ± 0,1*#      | +1,4 |

Примечание: АОК - антителообразующие клетки, ЯСКС - ядросодержащие клетки селезенки, ИС - индекс стимуляции (-) - по отношению к интактной группе, (+) - по отношению к контролю, \*  $p < 0,05$  - по отношению к интактной группе, #  $p < 0,05$  - по отношению к контролю.

Влияние композиции С-4 на клеточный иммунитет мышей вторичным иммунодефицитом изучали по 1) общему числу клеток в центральных (тимус, костный мозг) и периферических (лимфатические узлы) органах иммунитета, 2) уровню лейкоцитов в крови (табл. 8). Согласно полученным данным, композиция С-4 в дозе 20 мг/кг восстанавливает вторичный иммунодефицит у мышей с ОТГ: число АОК на всю селезенку повышается в 2,10 раза; количество АОК на 1 млн. спленоцитов - в 1,72 раза; титр антител к ЭБ в крови - в 1,43 раза; количество клеток в органах иммунитета: в тимусе - в 1,45 раза, в костном мозге - в 1,30 раза, в лимфатических узлах - в 1,36 раза; повышается количество эритроцитов (в 1,29 раза) и лейкоцитов (в 1,38 раза) в крови. По своей активности в отношении популяции АОК в селезенке мышей, титра антител к

Таблица 8

**Влияние композиции С-4 на клеточный иммунитет  
мышей на фоне вторичного иммунодефицита (M±m, n=6)**

| Показатели   | Интактная группа | Контроль   | ИС    | Гепа-NOVO, 300 мг/кг | ИС    | С-4, 20 мг/кг | ИС    |
|--|------------------|------------|-------|----------------------|-------|---------------|-------|
| Количество ЯСК в центральных и периферических органах иммунной системы |                  |            |       |                      |       |               |       |
| Клетки тимуса, *10 <sup>6</sup>  | 44,9±1,7         | 20,1±0,9*  | -2,23 | 28,1±1,3*#           | +1,40 | 29,1±1,2*#    | +1,45 |
| Клетки костного мозга, *10 <sup>6</sup>                                | 11,8±0,4         | 6,9±0,2*   | -1,71 | 8,8±0,2*#            | +1,28 | 9,0±0,2*#     | +1,30 |
| Клетки лимф. узлов, *10 <sup>6</sup>                                   | 26,3±1,1         | 15,2±0,4*  | -1,74 | 19,0±0,5*#           | +1,25 | 20,7±0,6*#    | +1,36 |
| Количество эритроцитов и лейкоцитов в крови                            |                  |            |       |                      |       |               |       |
| Эритроциты *10 <sup>9</sup> /мл  | 6,1 ± 0,2        | 3,1 ± 0,1* | -1,97 | 3,9 ± 0,2*#          | +1,26 | 4,0 ± 0,1*#   | +1,29 |
| Лейкоциты 10 <sup>6</sup> /мл  | 8,4 ± 0,3        | 4,2 ± 0,1* | -2,0  | 5,7 ± 0,1*#          | +1,36 | 5,7 ± 0,2*#   | +1,38 |

Примечание: ИС - индекс стимуляции (-) - по отношению к интактной группе, (+) - по отношению к контролю, \* p<0,05 – по отношению к интактной группе, # p<0,05 – по отношению к контролю.

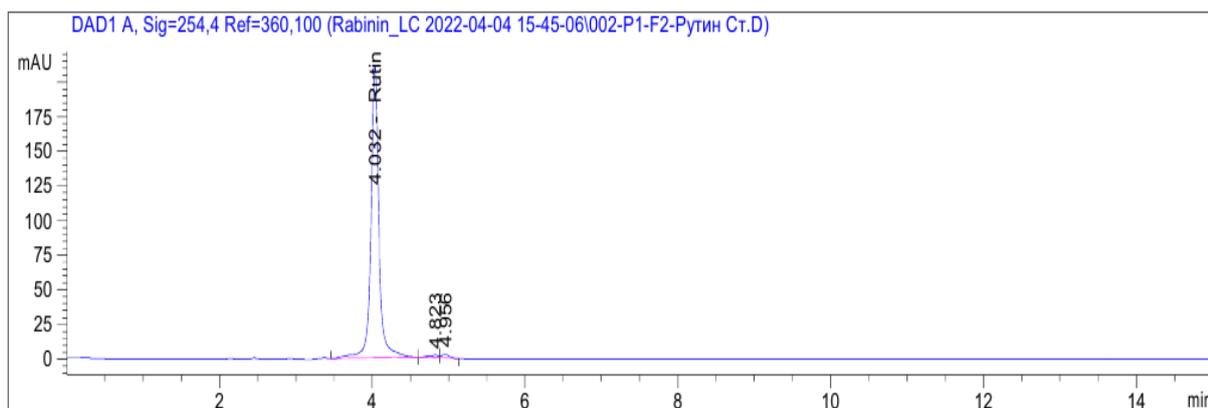
ЭБ, общего количества клеток в органах иммунитета, уровня эритроцитов и лейкоцитов в крови животных с ОТГ препарат С-4 не уступает препарату сравнения Гепа-NOVO.

В следующей серии экспериментов в композиции С-4 решено заменить флавоноид кверцетин на его гликозид – рутин и провести фармакокинетический анализ компонентов в сыворотке крови, поскольку рутин всасывается в кишечнике в виде кверцетина и его производных или в виде гидроксифенил пропионовых кислот. Основываясь на эти исследования можно ожидать, что при комплексообразовании рутин в составе композиции, действующей как «система доставки лекарств», должен быть «перенесен» через эндотелий кишечника опытных животных именно в виде рутина без биотрансформации, а время появления в крови данного флавоноида должно быть значительно меньше, чем 2-4 часа.

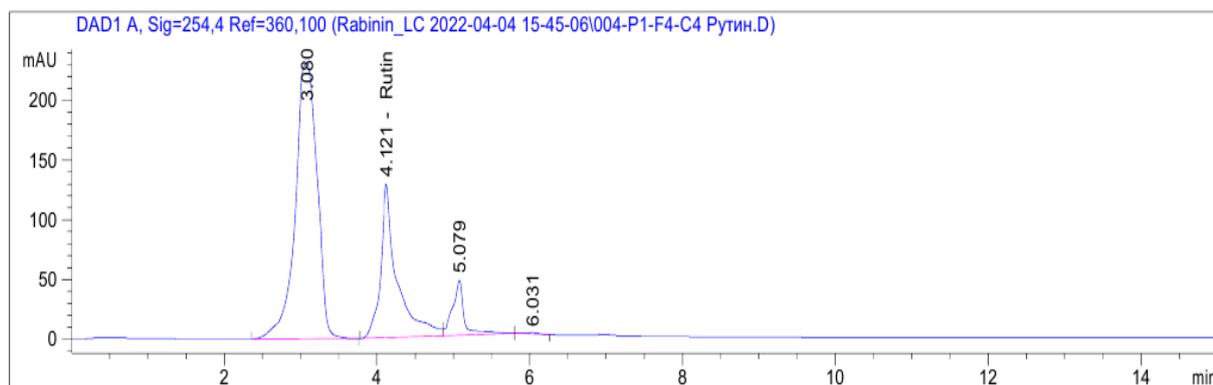
Согласно полученным данным, при внутрижелудочном введении композиции MG:Rut:Cys:Car в соотношении 4:0,5:0,5:0,5 в дозе 2000 мг/кг (½ ЛД50) через 30 мин в плазме крови появление рутина подтверждается методом ВЭЖХ при сопоставлении со стандартным образцом рутина (рис. 2). Это подтверждает переход рутина в кровь без изменений в ходе биотрансформации в кишечнике (рис. 3). Условия хроматографии: хроматография проведена с использованием Agilent Technologies 1260 (США) на колонке Poroshell 120 EC-C18, 2,7 μm, 4,6 x100 mm, детектор – диодная матрица, элюент – ацетонитрил:0,5% уксусная кислота (25:75, изократно), скорость - 0,6 мл/мин, детекция – 254, 265, 281 нм, на колонку нанесено 5 мкл образца плазмы, при 30<sup>0</sup>С, время анализа - 15 мин.

Тогда как при введении компонентов композиции MG:Rut:Cys:Car в соотношении 4:0,5:0,5:0,5 по-отдельности (MG - 1765,42 мг/кг, Rut - 160,40 мг/кг, Cys - 31,83 мг/кг и Car - 42,35 мг/кг) в эквивалентных количествах, рутин в крови не выявляется и через 2 часа наблюдения.

Эти исследования еще раз доказывают эффективность применения метода комплексообразования для получения системы доставки лекарств (рис. 4), что приводит к повышению биодоступности активных компонентов, значительному снижению используемых доз (в 100-200 раз), а вместе с этим и побочных эффектов. Также необходимо учесть, что при длительном курсе приема препаратов, в частности, это касается гепатопротекторов, назначаемых на 2-6 месяца, немаловажным фактором полноценного завершения лечения будет ценовой режим лекарственного средства.



**Рис. 2. Хроматограмма стандартного образца рутина**



**Рис. 3. Хроматограмма (254 нм) плазмы крови крыс после 30 мин введения композиции MG:Rut:Cys:Car в молярном соотношении 4:0,5:0,5:0,5 при введении в дозе 2000 мг/кг ( $1/2$  ЛД<sub>50</sub>)**

На заключительном этапе исследований проведен сравнительный анализ гепатопротекторной активности композиции С-4 и отдельных ее компонентов для доказательства эффективности комплексообразования. Была проведена серия экспериментов, в ходе которых компоненты препарата С-4 были введены по отдельности, в дозах, соответствующих их молярному соотношению в композиции (4:0,5:0,5:0,5) при введении суммарной дозы 20 мг/кг мышам. Вначале внутрижелудочно вводилась соль MG в дозе 18,31 мг/кг, затем через 30 мин остальные компоненты вместе – кверцетин, 0,82 мг/кг, D,L- карнитин 0,54 мг/кг и цистеин 0,33 мг/кг (1+3), в этом случае исключается возможность комплексообразования. Результаты представлены в табл. 9.

**Таблица 9**

**Сравнительная гепатопротекторная активность композиции С-4 и ее компонентов на модели острого токсического гепатита у мышей (M±m, n=9)**

| Препараты, дозы                           | КГА             |                              |                            |                  |               |
|---|-----------------|------------------------------|----------------------------|------------------|---------------|
|   | выживаемость, % | продолжительность жизни, дни | весовой коэффициент печени | динамика веса, г | суммарный КГА |
| Интактная группа                          | 100             | 6                            | 66,79±1,1                  | (+)2,17±0,31     | 1             |
| Контрольная группа                        | 40              | 3                            | 79,33±3,8                  | (-) 1,4±0,4      | 0             |
| С-4, 20 мг/кг                             | 100             | 6                            | 65,5±1,9                   | (+) 1,6±0,68     | 0,998         |
| Компоненты С-4, введенные раздельно (1+3) | 60              | 4,4                          | 71,9±1,75                  | (-) 4,2±0,37     | 0,130         |
| Гепа-NOVO, 300 мг/кг                      | 80              | 5,2                          | 65,7±2,72                  | (-) 0,2±0,58     | 0,710         |
| Фосфоглив, 110 мг/кг, Россия              | 100             | 6                            | 63,0±3,0                   | (+) 0,6±04       | 0,980         |

Композиция С-4 представляет наиболее активный гепатопротектор – суммарный КГА для С-4 составляет 0,998, причем по всем показателям для С-4 отмечается стабильно высокие показатели, что связано с тем фактом, что в С-4 представлены различные активные вещества, отвечающие за восстановление различных функций печени. В тоже время эти вещества «доносятся» носителем МГ до клеток организма только при введении животным в виде композиции, в то время как введение их по отдельности не приводит к ожидаемому результату – КГА компонентов С-4, введенных отдельно в виде 1+3, составляет только 0,130, что доказывает эффективность и перспективность применения супрамолекулярных комплексов на основе ГК и ее солей.

Эффективным оказался и российский гепатопротектор Фосфоглив (суммарный КГА = 0,980), однако обращает на себя внимание доза введения препарата - 110 мг/кг, что в 5,5 раза больше, чем суточная доза разработанного в ходе настоящего проекта препарата С-4. КГА препарата Гепа-NOVO, производства Узбекситан, введенный внутривенно оказал высокую степень ГПА, КГА=0,710, но также высоки дозы введения препарата, как и в случае Фосфоглива. При введении 300 мг/кг препарата Гепа-NOVO в организм мыши поступает: 26 мг/кг GS.; 260 мг/кг глицина, 13 мг/кг цистеина, что почти в 15 раз больше, чем С-4.

Таблица 10

Сравнительные показатели экономической эффективности, дозировки и способа приема пациентами композиции С-4 в сравнении с лекарственными препаратами Гепато-Ново, фосфогилив

| Препараты                          | Гепато-NOVO, Узбекистан   | Фосфогилив, Россия  | С-4  |
|------------------------------------|---|---|--|
| Активные вещества                  | Аплула 10 мл (230 мг):<br>Глицирам- 20 мг;<br>Глицин- 200 мг;<br>L-цистеин - 10 мг  | 100 мг капсулы:<br>Фосфатидилхолин - 65 мг;<br>Глицирризинат натрия-35 мг | 100 мг:<br>MG- 91,55 мг/кг , кверцетин -4,1 мг/кг,<br>DL-карнитин -2,7 мг/кг ,<br>цистеин – 1,65 мг/кг |
| Суточная доза для приема пациентам | 40-100 мл (920-2300 мг)   | 600-900 мг  | 100 мг   |
| Способ приема                      | Внутривенно однократно  | Перорально, по 2-3 капсулы 3 раза в день                                  | Перорально, по 1 таблетке/ капсулы однократно  |
| Цена                               | 1 упаковка: ампулы по 10 мл №10: 70000 сум (2021)<br>10 дней: 280-700 тысяч сум<br>В настоящее время производство препарата Гепато-NOVO прекращено<br>Stronger NEO-MINOFAGEN S (Япония) 1 упаковка: ампулы по 20 мл №30: от 1800000 сум | 1 упаковка: от 110 200 сум<br>Месячный курс: от 386-596 тысяч сум         |  |

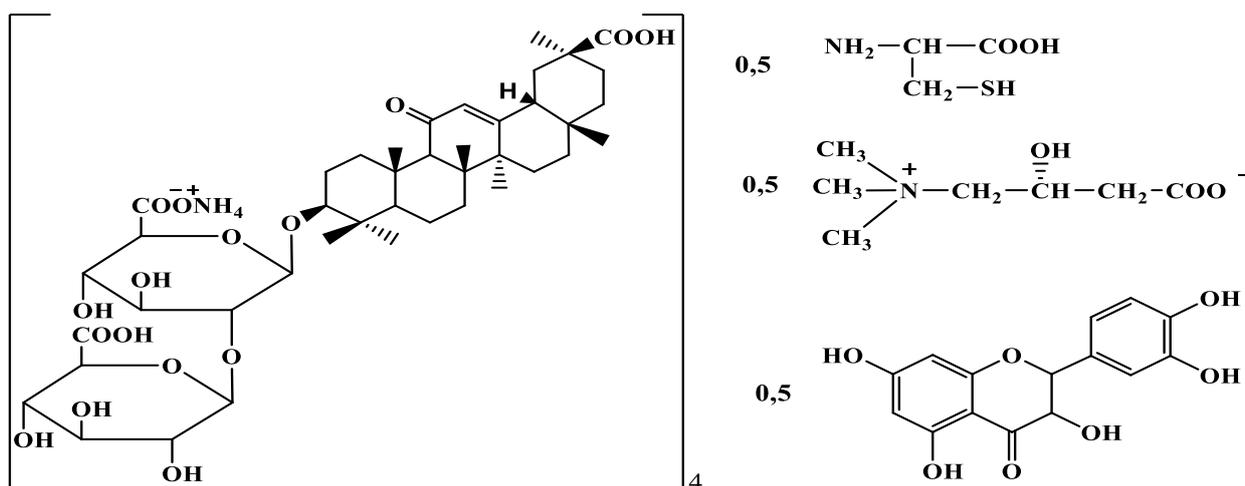


Рис. 4. Схема композиции С-4

В итоге, в ходе исследований был разработан препарат С-4 с иммуностропными, гепатопротекторными, антиоксидантными свойствами, для которого доказана высокая эффективность, низкая доза применения, а производство из местного растительного сырья обеспечит экономическую доступность препарата.

## ВЫВОДЫ

1. Антирадикальная активность *in vitro* (при измерении методами PRAP и FRAA) комплексных соединений моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты с антиоксидантами (аргинин, метионин, триптофан, цистеин, DL-карнитин·HCl, кверцетин, рутин и коричная, метоксикоричная и феруловая кислоты) в молярном соотношении 4:1 в 1,6-6,5 раза превышает активность этих соединений ( $p < 0,05$ ), наиболее активными оказались супрамолекулярные комплексы с метоксикоричной кислотой, карнитином и метионином.

2. Получено 5 композиций: С-1 (MG:MethA:Cys:Que), С-2 (MG:MethA:Met:Que), С-3 (MG:Rut:Trp:Car), С-4 (MG:Car:Cys:Que), С-5 (MG:FerA:Car:Cys) на основании моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты и 3 антиоксидантов в молярном соотношении 4:0,5:0,5:0,5, комплексы которых проявили наибольшую антирадикальную, гепатопротекторную, противовоспалительную активность, лучше восстановили детоксикационную функцию гепатоцитов, биохимические показатели крови, повысили количество антителообразующих клеток в селезенке. Наиболее активной композицией по токсическим свойствам, гепатопротекторной и иммуностропной активности в условиях *in vivo* оказалась композиция С-4.

3. Композиция С-4 нормализовала уровень общего белка, АЛТ, АСТ, мочевины, показатели гемостаза крови (протромбиновое время, активированное частичное тромбопластиновое время), весовой коэффициент печени до физиологического уровня при 7-дневном введении крысам в дозе 10 мг/кг на модели острого парацетамолового токсического гепатита.

4. Композиция С-4 проявила иммуностропную активность при внутрижелудочном введении мышам в дозе 20 мг/кг, восстанавливая вторичный иммунодефицит у мышей с ОТГ: число антителообразующих клеток (АОК) на селезенку повышается в 2,1 раза ( $p < 0,0001$ ); количество АОК на 1 млн. спленоцитов - в 1,72 раза ( $p < 0,0001$ ); титр антител к эритроцитам барана в крови - в 1,43 раза ( $p < 0,001$ ); количество клеток в органах иммунитета: в тимусе - в 1,45 раза ( $p < 0,001$ ), в костном мозге - в 1,3 раза ( $p < 0,0001$ ), в лимфатических узлах - в 1,36 раза ( $p < 0,0001$ ); повышается количество эритроцитов в 1,29 раза ( $p < 0,001$ ) и лейкоцитов в 1,38 раз ( $p < 0,0001$ ) в крови по сравнению с контрольными показателями.

5. Композиция С-4, полученная на основе супрамолекулярных комплексов и моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты, в качестве "системы доставки лекарственных средств" повысила биодоступность антиоксидантов, при этом при введении компонентов композиции отдельно происходит потеря ее гепатопротекторной активности, также при замене в составе композиции С-4 кверцетина на рутин в эквивалентном молярном соотношении, рутин в составе новой композиции переходит в плазму крови без биотрансформации в кишечнике животных в неизменном виде.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES  
DSc.02/30.12.2019.K/B.37.01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC  
CHEMISTRY**

---

**INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY**

**MAKHMUDOV LAZIZBEK UMARZHONOVICH**

**BIOLOGICAL AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF LOW-DOSE  
PREPARATIONS OBTAINED ON THE BASIS OF SUPRAMOLECULAR  
COMPLEXES**

**02.00.10 –Bioorganic chemistry**

**DISSERTATION ABSTRACT  
FOR THE DOCTOR OF PHILOSOPHY ON BIOLOGICAL SCIENCES (PhD)**

**Tashkent – 2024**

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration numbers of B 2021.2.PhD/B590

The dissertation has been prepared at the Institute of Bioorganic chemistry  
The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.biochem.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

**Scientific supervisor:** Tagayalieva Nigora Abdunabievna  
doctor of philosophy

**Official opponents:** Yuldashev Nasirdjan Muxamedjanovich  
Doctor of biological sciences, professor  
Abdulladjanova Nodira Gulyamjonovna  
Doctor of chemical sciences, professor

**Leading organization:** Andijan State University

Defense will take place on 19 november 2024 year 14<sup>00</sup> at the meeting of the Scientific council DSc.02/30.12.2019.K/B.37/01 of the Institute of Bioorganic Chemistry. Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262-35-40, Fax: (99871) 262-70-63).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Institute of Bioorganic Chemistry (Address: 100125, Tashkent, 83 M.Ulugbek street. Phone: 262 35 40, Fax: (99871) 262 70 63)., e-mail:shsha@mail.ru).

Abstract of the dissertation is distributed on «12» november 2024.  
(protocol at the register No 1 dated 12.11, 2024).



*[Signature]*  
**Sh.I.Salikhov**  
Chairman of scientific council on award of scientific degrees, D.B.Sc., academician

*[Signature]*  
**N.R.Khashimova**  
Acting Scientific secretary of scientific council on award of scientific degrees, D.B.Sc.

*[Signature]*  
**M.B.Gafurov**  
Chairman of scientific seminar under scientific council on award of scientific degrees, D.Ch.Sc.Prof.

## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim of the study** is to investigate the biological activity of a low-dose composition with hepatoprotective properties obtained based of supramolecular complexes from local plant raw materials (licorice, *Glycyrrhiza glabra*, *Sophora japonica*, *Sophora japonica*).

**The objects of the study** is monoammonium salt of GA (MG), amino acids (arginine (Arg), methionine (Met), Tryptophan (Trp), cysteine (Cys), DL-carnitine HCl (Car); flavonoids: quercetin (Que), rutin (Rut); phenolic acids (cinnamic (CinA), methoxycoric (MethA), ferulic (FerA) acids), supramolecular complexes and compositions, laboratory animals (mice, rats), blood, organs.

**The scientific novelty of the study** is as follows:

an increase of 1.6-6.5 times in the in vitro antiradical activity of antioxidants arginine, methionine, tryptophan, cysteine, DL-carnitine HCl, quercetin, rutin, cinnamic, methoxycoric and ferulic acids was determined during the transition to complexes with MG;

for the first time, a high degree of hepatoprotective activity was established for supramolecular MG complexes with methoxycoric acid, methionine, quercetin; for complexes with carnitine, cysteine – significant anti-inflammatory properties; for complexes with quercetin, carnitine – normalization of biochemical parameters in the blood against hepatitis; for complexes with methoxycoric acid, methionine - increased detoxification activity of hepatocytes;

for the first time, during the assessment of specific activity of 5 compositions in a molar ratio of 4:0.5:0.5:0.5: MG:MA:Cys:Que (C-1), MG:MA:Met:Que (C-2), MG:Rut:Trp:Car (C-3), MG:Car:Cys:Que (C-4), MG:FerA:Car:Cys (C-5) the highest hepatoprotective, immunotropic properties were found for composition C-4;

it was revealed the low toxicity of all studied complexes and compositions under intragastric and intraperitoneal administration;

*in vivo* experiments have shown a loss of the hepatoprotective activity of the C-4 composition when its components (MG, carnitine, quercetin, cysteine) are administered in equivalent doses separately;

it was found that when quercetin is replaced in the composition of C-4 with rutin in an equivalent molar ratio, rutin as part of the new composition passes in unchanged form into blood plasma without biotransformation in the intestines of animals.

**Implementation of research results.** Based on the scientific results obtained on the C-4 composition developed from local plant materials with hepatoprotective, antioxidant, immunotropic properties:

the results of research on the biological activity of the C-4 composition were used to determine the hepatoprotective properties of diazoimine derivatives of gossypol during the implementation of a fundamental project on the topic "Isolation of biologically active compounds from plants, isolation of individual compounds and on their basis the synthesis of new derivatives, the study of their

physico-chemical and spectral properties, as well as biological activity" (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-2097 dated October 3, 2023). As a result, this made it possible to conclude that diazoimine derivatives of gossypol have regulatory properties on cells of the immune system and liver;

composition C-4 (20 mg/kg), along with the pharmacopoeial drug Phosphogliv (Russia), was used as a comparison drug in the treatment of acute toxic hepatitis and its complications in mice with compounds isolated from medicinal plants *Brassica rapa*, *Nigella sativa*, *Sambucus nigra* during the implementation of a fundamental project on the topic "Structural and functional studies of biologically active active compounds, the study of the mechanism of action and the design of highly effective medicines and diagnostics" (certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-2096 dated October 3, 2023 ). As a result, it was proved that substances obtained from medicinal plants *Brassica rapa*, *Nigella sativa*, *Sambucus nigra* have properties to regenerate liver cells and stimulate the immune system;

the composition based on the monoammonium salt of glycyrrhizic acid was used in the project of the Department of Biophysics, Faculty of Medicine, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Autonomous University of Barcelona to study new drug delivery systems when assessing the relationship of oxidative stress in the body with hepatoprotection (certificate dated May 24, 2024). As a result, it was revealed an increase in the bioavailability of the resulting complexes.

**The structure and scope of the dissertation.** The content of the dissertation consists of introduction, four chapters, conclusions, list of references and appendices. The volume of the dissertation is 107 pages.

**ЭЪЛОНҚИЛИНГАНИШЛАРРЎЙХАТИ**  
**СПИСОКОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**

**I бўлим (I часть; I part)**

1. Махмудов Л. У., Арипов Т. Ф., Выпова Н. Л., Нурбекова Н. Б., Юлдашев Х. А., Эсанов Р. С., Гафуров М. Б., Якубова Р. А., Тагайалиева Н. А. Антиоксидантные и гепатопротекторные свойства комплексов моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты с аминокислотами и фенольными соединениями //Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2023. – Т. 86. – №. 3. – С. 23-28. <http://ekf.folium.ru/index.php/ekf/article/view/3068/2537>
2. Makhmudov L. U., Vypova N. L., Ashurova F. K, Yakubova R. A., Usmonov Sh. T., Tagayalieva N. A. Prospects for the use of supramolecular complexes of monoammonium glycyrrhizinate with polyphenols and amino acids as hepatoprotector //Science and innovation. – 2024. – Vol. 3. – №. D4. – P. 239-249.
3. Abdugafurova D. G., Amanlikova D. A., Mahmudov L. U., Karabayeva B. B., Kuzieva Z. N., Oripova M. J., Oshchepkova Y. I. Comparative assessment of hepatoprotective activity of *Brassica rapa*, *Nigella sativa*, *Sambucus nigra* substances with C-4 and phosphogliv preparations //Science and innovation. – 2023. – Vol. 2. – №. D12. – P. 722-726.
4. Махмудов Л. У., Абдугафурова Д. Г., Тагайалиева Н. А., Юлдашев Х. А. Парацетамол билан чақирилган ўткир захарли гепатитда in vivo шароитида С-4 ва фосфогливининг гепатопротекторлик фаоллигини қиёсий ўрганиш //Журнал теоретической и клинической медицины. – 2023. - № 4. – с. 198-202.
5. Ашурова Ф. К., Юлдашев Х. А., Тагайалиева Н. А., Азизова З. Ш., Ходжаназарова С. Ж., Махмудов Л. У., Аведурдиева Т. А. Исследование иммуностропной активности полученных комплексов в условиях физиологической нормы //Журнал теоретической и клинической медицины. – 2022. - №1. – с. 14-17.
6. Ашурова Ф. К., Юлдашев Х. А., Тагайалиева Н. А., Ходжаназарова С. Ж., Азизова З. Ш., Махмудов Л. У., Эргашева В. Ш., Аведурдиева Т. А. Исследование биохимической активности полученных комплексов на модели острого токсического гепатита //Журнал теоретической и клинической медицины. – 2022. - №3. – с. 11-14
7. Далимова С. Н., Хамдамова Н. А., Левицкая Ю. В., Кузиев Ш. Н., Гафуров М. Б., Юлдашев Х. А., Умарова Г. Б., Мухамаджонова Г. М., Выпова Н. Л., Тагайалиева Н. А., Махмудов Л. У., Хамраев С. Х. Исследования антиоксидантных свойств некоторых растворимых форм супрамолекулярных комплексов на основе моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты //Universum: химия и биология. - 2021. - № 1 (79). – с. 16-22.

## II бўлим (II часть; II part)

8. Эсанов Р. С., Гафуров М. Б., Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Гаипов У., Тагайалиева Н. А., Юлдашев Х. А. Исследование комплексообразования, устойчивости и биологической активности производных глицирризиновой кислоты //Сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума «Наука и Инновации - Современные Концепции» (г. Москва, 12 марта 2020 г. ). /отв. ред. Д. Р. Хисматуллин. – Москва: Издательство Инфинити, 2020. - С. 105-110.

9. Юлдашев Х. А., Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Эсанов Р. С., Баратов К. Р., Эльмуродов Л. К., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. Ранжирование различных растворимых форм некоторых антиоксидантов по биологической активности, *in vivo* //Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии 2020». – Ташкент, 22 мая 2020. – с. 171-172.

10. Выпова Н. Л., Махмудов Л. У., Юлдашев Х. А., Ашурова Ф. К., Эсанов Р. С., Баратов К. Р., Эльмуродов Л. К., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. Сравнительная характеристика растворимых форм некоторых антиоксидантов на модели парацетамолового гепатита, *in vivo* //Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии 2020». – Ташкент, 22 мая 2020. – с. 62-63.

11. Махмудов Л. У, Ботирова З. М, Абрекова Н. Н, Баратов К. Р, Юлдашев Х. А, Эсанов Р. С, Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. Сравнительный анализ гепатопротективной активности композиции С-4 на основе растительных компонентов //Interdisciplinary research: scientific horizons and perspectives: collection of scientific papers «Scientia» with Proceedings of the III International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 3), May 6, 2022. Vilnius, Republic of Lithuania: European Scientific Platform. – p. 66-67.

12. Махмудов Л. У, Ботирова З. М, Абрекова Н. Н, Юлдашев Х. А, Эсанов Р. С, Гафуров М. Б, Фомина М. А, Тагайалиева Н. А. С-4 препаратининг сурункали захарлаш хоссасини ўрганишдаги куёнларнинг периферик кон таркибий кўрсаткичларини аниқлаш //Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии – 2022», Ташкент, 20 мая 2022 г. – с. 118.

13. Makhmudov L. U, Botirova Z. M, Rakhmonova G. G, Yuldashev Kh. A, Baratov K. R, Esanov R. S, Gafurov M. B, Fomina M. A, Tagayalieva N. A. Comparative analysis of hepatoprotective activity of C-4 formulation based on the plant components// Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии – 2022», Ташкент, 20 мая 2022 г. – с. 21.

14. Махмудов Л. У., Аманликова Д. А., Абдугафурова Д. Г., Юлдашев Х. А., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. GC:CAR, GC:CYS, GC:TRP, GC:MET,GC:ARG комплексларнинг ўткир захарлигини ўрганиш //Материалы Научной Конференции “Проблемы биофизики и биохимии”. Ташкент, 19 мая 2023. - С. 168-169.

15. Махмудов Л. У., Аманликова Д. А., Абдугафурова Д. Г., Юлдашев Х. А., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. GC:FerA, GC:MethA, GC:Que, GC:Rut комплексларнинг ўткир захарлилигини ўрганиш //Материалы Научной Конференции “Проблемы биофизики и биохимии”. Ташкент, 19 мая 2023. -С. 169-170.

16. Махмудов Л. У., Аманликова Д. А., Абдугафурова Д. Г., Юлдашев Х. А., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. Супрамолекуляр комплексларга асосланган композицияларнинг ўткир захарлилигини аниқлаш //Материалы Научной Конференции “Проблемы биофизики и биохимии”. Ташкент, 19 мая 2023. - С. 170-171.

17. Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Абдугафурова Д. Г., Юлдашев Х. А., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. Определение биохимических показателей при изучении хронических токсических свойств препарата С-4. //Сборник трудов международной научно-практической конференции «Эксперимент в хирургии и онкологии», 22 сентября 2023 года, КГМУ, Курск, Россия. С. 16.

18. Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Юлдашев Х. А., Эсанов Р. С., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. Скрининг гепатопротективной активности композиций глицирама с рядом антиоксидантов //Материалы Международ. науч. -практ. конф. «ТашНИИВС: вчера, сегодня и завтра», «23-24» ноября 2021 г. Ташкент. – с. 72-74.

19. Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Юлдашев Х. А., Эсанов Р. С., Гафуров М. Б., Тагайалиева Н. А. С4 препаратининг сурункали захарлаш хоссасини ўрганишдаги биокимёвий кўрсаткичларни аниқлаш //Материалы Международ. науч. -практ. конф. «ТашНИИВС: вчера, сегодня и завтра», «23-24» ноября 2021 г. Ташкент. – с. 71-72.

20. Тагайалиева Н. А., Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Юлдашев Х. А., Эсанов Р. С., Гафуров М. Б. С4 препаратининг сурункали захарлаш хоссасини аниқлаш натижасидаги буйракларнинг функционал холатини ўрганиш //Материалы Науч. -практ. Конф. «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы», 18-19 ноября 2021, Ташкент. – с. 476-477.

21. Тагайалиева Н. А., Махмудов Л. У., Арипов Т. Ф., Выпова Н. Л., Юлдашев Х. А., Эсанов Р. С., Гафуров М. Б. Изучение антирадикальной активности супрамолекулярных комплексов глицирама с антиоксидантами, in vitro //Материалы Науч. -практ. Конф. «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы», 18-19 ноября 2021, Ташкент. – с. 474-475

22. Тагайалиева Н. А., Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Юлдашев Х. А., Эсанов Р. С., Гафуров М. Б. Гепатопротекторные свойства комплексов глицирама с антиоксидантами //Материалы Науч. -практ. Конф. «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы», 18-19 ноября 2021, Ташкент. – с. 465-467.

23. Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Якубова. Р. А., Тагайалиева Н. А. Ўткир захарли гепатит моделида С-4 композициясининг иммуотроп

фаоллигини қиёсий баҳолаш //Материалы республиканской научно-практической конференции «Достижения и перспективы супрамолекулярной химии». 15 мая 2024, Ташкент. – с. 335-337.

24. Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Юлдашев Х. А., Усмонов Ш. Т., Тагайалиева Н. А., Найимов Б. Х. С-4 препаратининг сурункали захарлаш хоссасини ўрганиш натижасида буйракларининг функционал кўрсаткичларини аниқлаш //Материалы научной конференции «Проблемы биофизики и биохимии – 2024». 24 мая 2024, Ташкент. – с. 162-163.

25. Махмудов Л. У., Выпова Н. Л., Якубова Р. А., Тагайалиева Н. А. С-4 Композицияси ва алоҳида киритилган компонентларининг гепатопротектор фаоллигини қиёсий баҳолаш //Материалы республиканской научно-практической конференции «Достижения и перспективы супрамолекулярной химии». 15 мая 2024, Ташкент. – с. 327-329.

Avtoreferat «O‘zbekiston kimyo jurnali» tahririyatida tahrirdan o‘tkazildi va uning o‘zbek, rus va ingliz tili matnlari mos keladi



№ 10-3279

Bosishga ruxsat etildi: 22.10.2024.  
Bichimi: 60x84<sup>1/16</sup> «Times New Roman»  
garniturada raqamli bosma usulda bosildi.  
Shartli bosma tabog‘i 2,8. Adadi 100. Buyurtma: № 128  
Tel: (99) 832 99 79; (77) 300 99 09  
Guvohnoma reestr № 10-3279  
“IMPRESS MEDIA” MChJ bosmaxonasida chop etildi.  
Manzil: Toshkent sh., Yakkasaroy tumani, Qushbegi ko‘chasi, 6-uy.