

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО**(12) Описание изобретения**
К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

- (21) 2201677
(22) 06.05.2022
(46) Бюл. 188, 2022
(71)(73) Холзода А.К. (ТJ); Азонов Дж. (ТJ)
(72) Холзода А.К. (ТJ); Азонов Дж. (ТJ); Ганиев Х.А. (ТJ); Азонов И.Дж. (ТJ)
(54) **СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ЖЕЛЧЕГОННЫМ, ХОЛЕЛИТИЧЕСКИМ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ**
(56) 1. Азонов Д.А. Влияние лаврового, лавандового масла и олиметина на некоторые функциональные показатели печени / Д.А. Азонов., П.П. Денисенко// Здравоохранения Таджикистана.- 1992.-№1.- С. 59,61
2. Азонов Д.А. Лечебные свойства Фенхелового и лавандового эфирного масла.-/ Д.А. Азонова., П.П. Денисенко, Н.А. Лосев и др., изд-во «Эчод» .- 2006.-132 с.
3. Азонов Д.А. Лечебные свойства гераноретина и эфирных масел монография / Д.А. Азнов., А.К. Холов., Г.В. Разыкова и др.).- Изд-во Матбуот.- 2011.-
4. Азонзод Ч. Хусусияти шифоии рустаниҳои равғани атрогиндор ва равғанҳои атри/ Ч.Азонзод, Б.М. Холназаров, Х.С. Шарифзода//.- Душанбе.- 2019.-255 с.
5. Киров М. Розовое масло и жирозитал// МБИ.- София.- № 3.- С.3-8.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства.- М., 2002.- Т1.- 540 с.
7. Николаевский В.В. Ароматотерапия.- М.: Медицина -2000.
8. Пономарева, Е. И. Идентификация компонентов эфирного масла герани душистой (*Pelargonium graveolens* L'Her) методом тонкослойной хроматографии / Е. И. Пономарева, Е. И. Молохова, А. К. Холов // Химия в интересах устойчивого развития. – 2015. – № 5. – С. 527 – 532.
9. Прохорова М.Н. Большой практикум по углеводному обмену.-Л.: Медицина.-1985.
10. Разыкова Г.В. Фармакологическое изучение гипополипидемических свойств гераноретина, лаврового и лимонного эфирных масел/ Автореферат на соискание ученой степени канд мед наук.- Душанбе.-2012.-22 с.
11. Холов А.К. Сравнительное фармакологическое изучение лекарственных форм эфирных масел.-Душанбе-2020.- 288 с.

2

12. Чучалин В.С., Теплякова Е.М. Коррекция патологий гепатобилиарной системы комплексным растительным средством // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – № 4. – С. 52-57.
13. Aneja R, Upadhyaya G, Prakash S, Dass SK, Chandra R. Ameliorating effect of phytoestrogens on CCl4-induced oxidative stress in the livers of male Wistar rats. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol.* 2005;33(2):201-13. doi: 10.1081/bio-200055908. PMID: 15960080.
14. Onoja, S.O. Hepatoprotective and antioxidant activity of hydromethanolic extract of *Daniella oliveri* leaves in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats / S.O. Onoja, G.K. Madubuike, M.I. Ezeja // *J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2015. – Vol. 26, № 5. – P. 465-470.
15. Parhiz H, Roohbakhsh A, Soltani F, Rezaee R, Iranshahi M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytother Res.* 2015 Mar;29(3):323-31. doi: 10.1002/ptr.5256. Epub 2014 Nov 13. PMID: 25394264.
16. Samojlik I, Lakić N, Mimica-Dukić N, Daković-Svajcer K, Bozin B. Antioxidant and hepatoprotective potential of essential oils of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and caraway (*Carum carvi* L.) (Apiaceae). *J Agric Food Chem.* 2010 Aug 11;58(15):8848-53. doi: 10.1021/jf101645n. PMID: 20608729.
(57) Изобретение относится к области медицины, а именно к малотоксичным средствам с широким спектром фармакологического действия и может быть использовано в качестве средства растительного происхождения, обладающего желчегонным, холелитическим и гепатопротекторным действием и может быть применено для лечения и профилактики различных воспалительных заболеваний желчного пузыря, печени и желчных протоков.
Сущность изобретения заключается в разработке новых форм лекарственных средств на основе растительного масла и эфирного масла лимона Мейера.

Изобретение относится к медицине, а именно к малотоксичным средствам с широким спектром фармакологического действия и может быть применено для лечения и профилактики различных форм и заболеваний печени, желчного пузыря, желчных путей и воспалительных процессов гепатобилиарной системы.

Согласно литературным данным в настоящее время, для лечения заболеваний гепатобилиарной системы в качестве желчегонного, холелитического, гепатозащитного и противовоспалительного средства в основном назначают пероральные гепатозащитные и противовоспалительные средства синтетического и растительного происхождения например; Карсил, Легалон, Силибор, Силимарин, Розанол, Жирозиталь, Олиметин, Роваксол, Фламин и др. [3,6,12].

Известно, что эфирные масла и лекарственные средства на их основе используются для лечения и профилактики заболеваний гепатобилиарной системы и участвуют в регулировании различных метаболических процессов организма. Эфирные масла в том числе, активно участвуют в регуляции различных токсических и лекарственных поражений печени, углеводного, липидного обмена, восстановление функциональной активности печени, сердечно-сосудистой системы, поджелудочной железы, а также для поддержания энергетического статуса организма и противодействие оксидантному стрессу [2,11].

Прототипом заявленного изобретения является эфиромасличный препарат Олиметин, содержащий масло мяты перечной - 0,0085 г, масло терпентина очищенного - 0,01707 г, масло эфирного айирного - 0,0125 г, масло оливкового - 0,46025 г, сера очищенной - 0,0017 г и растительное масло остальное. Препарат применяется при желчнокаменной, почечнокаменной болезни и обладает желчегонными, противовоспалительными и спазмолитическими свойствами. [1,6]

Недостатками можно считать, тот факт, что используемое средство Олиметин в отдельности не проявляет достаточные гепатозащитные свойства наряду с многокомпонентностью, также недоступность и дороговизна входящих в них некоторых видов эфирных масел (терпентиновое масло, айирное эфирное масло, оливковое масло).

Для сравнения желчегонного эффекта также использовали известный Болгарский желчегонный и гипополидемический препарат Жирозитал содержащий эфирное масло розы Казанлыкской и витамин А [3,5].

Для выяснение гепатопротекторного эффекта заявленного средства в качестве сравнения использовали известное гепатопротекторное средство Карсил, который в экспериментальной фармакологии широко используется в качестве препарата сравнения [6].

Целью изобретения является создание малотоксичного отечественного и доступного средства для лечения и профилактики заболевания печени, желчного пузыря и гепатобилиарной системы сопровождающееся воспалительным генезом и удобной

для длительного хранения, перевозки, использования и сохраняющее ценные лечебные свойства.

Данная цель достигается путем смешивания эфирного масла лимона Мейера с растительным (подсолнечным) маслом при следующем соотношении компонентов, масс. г.:

Эфирное масло лимона Мейера - 0,01-0,02

Масло растительное - остальное

Средство готовят следующим образом; к 980 мл подсолнечного масла добавляют 20,0 мл эфирного масла лимона Мейера, перемешивают и хранят в плотно закрытой стеклянной таре темного цвета в сухом прохладном месте.

Средство «Лимонеол» может быть выполнено в форме мягких желатиновых капсул.

Предлагаемое средство позволяет улучшить желчегонные, холелитические, гепатозащитные свойства и нормализовать показатели секреции желчи, общего холестерина, билирубина триглицеридов, общих липидов, фосфолипидов, ферментов переаминирования и способствует усилению иммунного статуса, улучшает антиоксидескую, антиоксидантную функцию печени и может быть использовано для лечения токсических гепатитов и заболеваний гепатобилиарной системы.

Таким образом, предлагаемое техническое решение, а именно исследуемое средство обладает новизной по сравнению с прототипом, имеет изобретательский уровень по сравнению с существующим уровнем техники и является промышленно применимым, то есть отвечает признакам патентоспособности изобретения.

Оценку желчегонного, холелитического, гепатозащитного и противовоспалительного действия «Лимонеола» проводили на модели СС14 гепатита на белых крысах.

Лечебные свойства эфирного масла лимона Мейера в основном связаны с биологически активными веществами его состава.

В состав эфирного масла лимона Мейера входят α -туен, α -пинен-2,18, сабинен-0,34, β -пинен - 7,89, мирцен-1,98, *n*-кумен-3,44, лимонен- 71,86, γ -терпинен- 4,92, терпенолен-, линалоол-0,41, α -терпинеол -0,42, цис-п-мента-1(7), 8-диен-2-ол-1,99, гераниаль-2,71, тимол-, циторнил ацетат -0,51, геранил ацетат-, β -бурбунен-0,32, кариофилен- 0,40, цистуопсен-, α -гумулен -, гермакрен D-, β -бисаболен-, δ -кадинен. [8]

Установлено, что эфирное масло лимона Мейера обладает гипополипидическим, противовоспалительными, антибактериальными и гепатозащитными свойствами [7].

В народной медицине препараты на основе различных частей лимона используют как кровоостанавливающее, жаропонижающее, противовоспалительное средство, плоды лимона используют при водянке, почечнокаменной болезни, туберкулезе легких, геморрое и как обезболивающее средство [4,7].

Препараты лимона также оказывают возбуждающее и стимулирующее действие на центральную нервную систему, функцию дыхания и сердечно-сосудистую деятельность, а также

повышают остроту зрения [10]. Экспериментальными исследованиями установлено, что эфирное масло лимона обладает гипополипидемическими свойствами и по эффективности не уступает гипополипидемическим препаратам сравнения.

Пример 1. Изучение влияния испытуемых средств на секреторную функцию печени.

Исследования проведены на 70 белых крысах обоего пола с массой тела 195-230 г., которые были распределены на 6 групп: 1 – контроль; 2 и 3 животные получавшие Лимонеол в дозах 0,01 и 0,02 г/кг массы. 4 и 5; 6 – животные, получавшие за 1 ч до канюлирования жёлчного протока внутрижелудочно Жирозитал, ЭММ (эфирное масло можжевельника) и Карсил по вышеуказанной схеме в дозе 0,05 г/кг массы тела. Контрольные животные получали соответствующий объем подсолнечного масла. Желчный проток канюлировали по методу Фишера и Варса (1950).

Показано, что у контрольных крыс за каждый час количество секретируемой жёлчи составило в среднем $3,10 \pm 0,01$ мг/мин/100г массы тела.

Анализ показал, что наибольшую стимулирующую активность Лимонеол оказывает в дозе 0,02 г/кг массы, увеличивая объем секретируемой жёлчи. За 3 ч. от начала фистулирования общего жёлчного протока объем жёлчи у крыс, получавших Лимонеол на 35,5%, а серия получавших Жирозитал, ЭММ и Карсил количество секретируемой жёлчи составляло в среднем 41,1%, 27,8% при получении Карсила цифры не отличались от показателей контроля (табл. 1). Наряду с этим, Лимонеол активно влияет на химический состав желчи. Лимонеол в указанной дозе улучшает, изменяется химический состав жёлчи. Было отмечено повышение в жёлчи концентрации суммарных жёлчных кислот, фосфолипидов и величины холато-холестеринового коэффициента (ХХК) ($P < 0,05$). (Табл.2)

Вместе с тем содержание холевой кислоты под действием Лимонеола в дозе 0,02 г/кг снизилось почти на 16%, то есть имело тенденцию к снижению, а после применения других испытуемых веществ осталось почти без изменений.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемое средство на основе эфирного масла лимона Мейера обладает выраженными желчегонными и холистическими свойствами, так что согласно классификации желчегонных средств ее можно отнести к истинным холеретикам. Исходя из этого, использование данного средства при заболеваниях гепатобилиарной системы является вполне оправданным, поскольку средство обладает достаточно выраженной эффективностью при отчетливом отсутствии токсического эффекта в применяемых терапевтических дозах.

Пример 2.. Желчегонные свойства Лимонеола при токсическом гепатите

В связи с тем, что желчевыделительная функция печени является наиболее чувствительной к воздействию токсических веществ, в том числе к CCl_4 в связи с этим доклинические испытания Лимонеола, проводились на белых крысах, на моделях острой и подострой интоксикации CCl_4 .

Токсическое поражение печени вызывали подкожным введением 50%-ного раствора CCl_4 на подсолнечном масле в дозе 4 мл/сут/кг в течение 3 дней при острой или в дозе 2 мл/кг через день при подострой и хронической интоксикации. Параллельно с введением гепатотоксина животным опытных групп вводили ежедневно соответствующие изучаемые вещества в дозах 0,01 и 0,02 г/кг массы внутрижелудочно.

При остром токсическом гепатите наблюдается резкое уменьшение количества секретируемой желчи (табл.3).

Объем секретируемой желчи под влиянием CCl_4 по сравнению с интактными животными уменьшается в среднем на 35%, в тоже время у животных, получавших исследуемое средства в дозе 0,01, 0,02 г/кг объем желчи в среднем за 3 ч увеличивается на 109,1%, 120% соответственно. Показатели желчегонного свойства Жирозитала, эфирного масла можжевельника (ЭММ) были незначительно ниже аналогичным показателям Лимонеола. В связи с тем, что испытуемый препарат оказал наиболее выраженный эффект в дозе 0,02 г/кг массы, дальнейшее исследование при токсическом поражении печени проводились на данной дозе.

В результате месячной затравки CCl_4 в желчи контрольных крыс содержание СЖК уменьшалось на 30%, по сравнению с уровнем данной кислоты у интактных животных.

Концентрация фосфолипидов в составе желчи контрольных крыс при подострой интоксикации в среднем уменьшалась в 1,8 раза, тогда как при подостром поражении в 2,2 раза (табл. 4).

Выраженное изменение химического состава желчи свидетельствует о тяжелых поражениях функции гепатоцитов на фоне отравления гепатотоксином. Лимонеол введенный в дозе 0,02 г/кг массы в течение 1 месяца заметно предотвращал отрицательное влияние CCl_4 на гепатоциты и способствовал нормализации химического состава желчи у подопытных крыс. Изучаемое средство достоверно ($P < 0,001$) повышал концентрацию СЖК и фосфолипидов, а также достоверно ($P \leq 0,05$) снижал уровень холевой кислоты. Концентрация суммарных желчных кислот при подострой интоксикации у крыс, леченных Лимонеолом, повышалась на 88%, а у животных, получавших препараты сравнения Жирозитал и эфирное масло можжевельника (ЭММ) – на 85,5-74,4%, а показатели Карсила были аналогичны интактным крысам. Концентрация фосфолипидов и величина холато-холестеринового коэффициента достоверно ($P < 0,001$) повышались у всех опытных животных.

Интерпретация полученных результатов с позиции патогенеза гепатотоксического эффекта CCl_4 показывает, что нормализация процесса желчеобразования и ее экскреция в 12-перстную кишку у крыс получавших Лимонеол по всей вероятности происходит в результате снижения тонуса желчных протоков и усиления сократительной способности желчного пузыря под влиянием эфирных масел.

Что ранее было доказано при изучении фармакологических свойств геранола, гераноретинала и

эфирных масел [3].

Наряду с этим, испытуемое средства нормализует химический состав желчи и устраняет повышенную степень ее литогенности, то есть обладает желчегонным, холелетическим, холецистокинетическим и спазмолитическим действием.

Пример 3. Влияние Лимонеола, на показатели выживаемость веса крыс и антитоксической функцию печени при токсическом гепатите.

Гепатозащитные свойства Лимонеола на функциональное состояние печени изучали на 40 беспородных белых крысах массой 190-220 г. Функциональное состояние печени оценивали по продолжительности барбамилового сна. Однако интегрированным показателем витального состояния животных является показатель их выживаемости при различного рода воздействиях токсических веществ (табл.5). Как видно из (табл.5) половозрелые крысы хорошо переносят подострую затравку СС14. В результате подострой интоксикации гепатотоксином погибло 25% животных, на фоне введения эфирного масла можжевельника соответственно погибла 12,7% подопытных животных.

В сериях получавших Лимонеол, Жирозитал и Карсил явление смертельных исходов не наблюдалось. Более важным показателем является масса тела и отдельных органов, особенно печень, принимающей активное участие в кровяной и белково-синтетической деятельности организма (табл. 5).

Показано, что при подострой интоксикации СС14 происходит значительное уменьшение массы тела крыс. Так, через 1 месяц от начала затравки масса тела контрольных животных по сравнению с интактными уменьшилась на 18,9%.

У крыс получавших Лимонеол, Жирозитал и Карсил динамика массы тела была близка к интактным. Полученные данные свидетельствуют о сберегающем эффекте препаратов эфирных масел на фоне длительной интоксикации крыс, вызванной четыреххлористым углеродом, на организм в целом, что и способствовало нормализации массы тела, сниженной при воздействии гепатотоксина, вызывающего возникновение симптомов токсического гепатита.

Интоксикация крыс гепатотоксином сопровождалась резким ухудшением антитоксической и экскреторной функций печени. Так, продолжительность барбамилового сна при остром токсическом поражении печени у контрольных животных по сравнению с интактными удлинится на 164%. В сериях леченных Лимонеолом в дозе 0,02 г/кг массы, продолжительность барбамилового сна по отношению к контрольным животным укорачивается на 34%.

При сравнительном анализе выявлено, что Лимонеол на фоне острой интоксикации гепатотоксином в указанных дозах не значительно превосходит аналогичные свойства препаратов сравнения Жирозитала, ЭММ и Карсила (табл.6).

Аналогичная картина была получена на фоне подострого токсического гепатита вызванной тетрахлорметаном. Продолжительность барбамилового сна у контрольных животных по сравнению с интактными удлинилось на 161,5%, а у животных получавших

Лимонеол в дозе 0,01 и 0,02 г/кг массы продолжительность барбамилового сна по сравнению с контрольными животными укоротился на 29,4%, 31,2% соответственно (табл.7).

Препараты сравнения в свою очередь также оказали ощутимый гепатопротекторный эффект, однако по эффективности Жирозитал и Карсил значительно уступали Лимонеолу, а показатели ЭММ были близки к испытуемому средству.

Полученные данные красноречиво свидетельствуют о том, что на фоне подострого (1 месяц) отравления гепатотоксином, по всей вероятности происходит резкое нарушение структуры гепатоцитов, а также функциональное расстройство всей гепатобилиарной системы.

Таким образом, изучаемый средство Лимонеол и препараты сравнения, по всей вероятности смягчая токсическое воздействие СС14, препятствуют разрушительной деятельности свободнорадикальных продуктов, образуемых из тетрахлорметана под воздействием активно функционирующего ПОЛ в ткани печени, что в конечном итоге отражается на таком важном показателе, как антитоксические функции печени и тем самым Лимонеол инактивируя свободные радикалы и активность ПОЛ улучшает данный показатель.

Пример 4. Влияние Лимонеола на показатели маркеров цитолитического синдрома и холестаза на фоне токсического гепатита.

Гепатозащитные свойства Лимонеола также были изучены по состоянию активности маркеров цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ), холестаза (ЩФ), гамаглутамилтранспептидаза (ГГТ), а также показателей белкового, липидного обмена и содержание билирубина состава крови.

Установлено, что определение активности маркеров цитолитического синдрома АЛТ, АСТ, маркера холестаза, (ЩФ) и гамаглутамилтранспептидаза (ГГТ) имеют важное диагностическое значение для выяснения ранних признаков паренхиматозного повреждения печени и широко применяется при диагностике острых и хронических воспалительных заболеваний, а также патологии печени и в том числе при токсических поражениях печени.

В связи с этим нами были исследованы влияние Лимонеола на активность указанных ферментов на фоне токсического поражения печени крыс СС14.

Согласно представленных в (табл. 8) данные указывают, что в результате подострой интоксикации гепатотоксином наблюдается резкое повышение активности маркеров цитолитического синдрома (АЛТ и АСТ). Концентрация, которых в сыворотке крови контрольных животных по сравнению показателями интактных серий повышаются на 61,2% и 95,2% соответственно. Уровень маркера холестаза, ЩФ также увеличивается на 160%, а ГГТ на 131,2%.

Месячное внутрижелудочное введение средства Лимонеол в дозе 0,02 г/кг массы способствовало снижению активности маркеров цитолиза АЛТ и АСТ по сравнению с контрольными животными на 36,7%, 51,2% соответственно. Концентрация ЩФ и ГГТ состава крови повышенные в результате воздействия тетрахлорметана в сериях, леченные сред

ством Лимонеол по сравнению с контрольными животными снижаются соответственно на 36,92% и 49,3%.

Препараты сравнения Жирозитал, ЭММ и Карсил также оказали положительное влияние на активность печеночных ферментов АЛТ, АСТ и холестаза, ЩФ и ГГТ, однако при сравнительном анализе незначительно уступали Лимонеолу в дозе 0,02 г/кг массы (табл. 9).

Таким образом, полученные результаты укрепляют наши предположения об гепатопротекторной эффективности Лимонеола на фоне токсического гепатита вызванного введением СС14.

Пример 5. Влияние Лимонеола на обмен белков, липидов и билирубина при токсическом гепатите.

Известно, что в результате воздействия супероксидных радикалов, образующихся при окислении СС14, на гепатоциты происходит нарушение липидного и жирового состава биослоя клеточных мембран. В связи с этим прежде всего было изучено влияние Лимонеола на содержание холестерина, билирубина, фосфолипидов, β -липопротеидов и триглицеридов сыворотки крови при интоксикации СС14.

Согласно результатам представленных в (табл. 10) при подостром поражении печени СС14 происходит заметное нарушение баланса липидов в сыворотке крови крыс – концентрация общих липидов и холестерина сыворотки крови в контрольной группе животных по сравнению с интактными возросла на 65%, билирубина – на 130, β -липопротеидов – на 210 и триглицеридов – на 107%, тогда как уровень фосфолипидов снижался на 44%.

В процессе месячного лечения крыс Лимонеолом, уровень общих липидов, холестерина, билирубина, β -липопротеидов и триглицеридов по сравнению с интактными животными достоверно ($P < 0,001-0,05$) снижался, а уровень фосфолипидов, напротив, повышался на 52%. Лимонеол также оказывает умеренно выраженный терапевтический эффект на показатель билирубина. Уровень, которого под воздействием Лимонеола в дозах 0,01 и 0,02 г/кг массы по сравнению с контрольными сериями снижается на 42,2% и 45,8% соответственно.

Жирозитал и Карсил в испытуемых дозах на фоне СС14 по действию на липидный обмен оказались наравне с Лимонеолом введенного в дозе 0,02 г/кг по всем параметрам исследования.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что Лимонеол активно влияет на показатели обмена липидов и билирубина нарушенное под воздействием гепатотоксина и тем самым, нормализуя указанные показатели и по эффективности, не уступает препаратам сравнения.

Пример 6. Влияние Лимонеола, на уровень гликогена и сиаловых кислот в тканях печени при токсическом гепатите

Известно, что при токсическом поражении печени СС14 основные нарушения обмена веществ происходят, прежде всего, в паренхиме печени. Исходя из этого, наши дальнейшие шаги были направлены на изучение влияния Лимонеола на содержание гликогена и сиаловых кислот в ткани печени при

токсическом поражении СС14.

Исследование проводили на тех же животных, которым на фоне гепатотоксина внутрижелудочно вводили Лимонеол, Жирозитал, эфирное масло можжевельника и Карсил. Содержание гликогена в ткани печени определяли антроновым методом [9] (М. Прохорова и соавт., 1985), сиаловые кислоты в ткани печени по Aminof (1959).

Установлено, что при подострой интоксикации СС14 (табл. 11) концентрация гликогена в гомогенатах печени контрольных крыс в среднем равнялась $238,0 \pm 6,4$ против $381,0 \pm 11,0$ мг% у интактных.

Средство Лимонеол на фоне токсического гепатита улучшает показатель гликогена состава тканей печени. У животных, леченных Лимонеолом в дозах 0,01 и 0,02 г/кг массы уровень гликогена по сравнению с контролем, увеличивается на 38% и 71% соответственно.

Концентрация сиаловых кислот при подостром токсическом поражении печени СС14 в гомогенатах из тканей печени контрольных крыс уменьшалась до $21,1 \pm 1,2$ против $36,0 \pm 4,3$ нмоль/л.

В сериях леченных Лимонеолом в указанных дозах уровень сиаловых кислот повышалась на 54,6% и 64,3%, в тоже время препараты сравнения Жирозитал, ЭММ и Карсил по эффективности не уступали Лимонеолу (табл. 12).

Восстановление концентрации гликогена в печени свидетельствует о положительном влиянии испытуемых средств на углеводный обмен печени. Введение Жирозитала и Карсила также вызывало достоверное ($P 0,05-0,001$) увеличение содержания гликогена в гомогенате ткани печени. При сравнительном анализе с препаратами сравнения наиболее выраженный эффект был присущен эфирному маслу можжевельника, где концентрация гликогена по сравнению с контролем увеличивалась на 66%, что незначительно ниже чем показатель Лимонеола в дозе 0,02 г/кг массы.

Концентрация сиаловых кислот при подостром токсическом поражении печени СС14 у контрольных крыс уменьшалась до $21,1 \pm 1,2$ против $36,0 \pm 4,3$ нмоль/л. У леченных Лимонеолом в дозе 0,02 г/кг показатель сиаловых кислот по сравнению с контрольными животными повышалась в среднем на 64,76%, в сериях леченных препаратами сравнения Жирозиталем, ЭММ и Карсилом на 57,6%, 64,2% и 62,6% соответственно (табл. 12).

Анализ полученных данных показал, что испытуемое средство Лимонеол оказывает благоприятное влияние на обменные процессы в печени при ее выраженном токсическом поражении СС14. При этом Лимонеол, не уступает по эффективности препаратам сравнения Жирозиталу, Карсилу и эфирной масле можжевельника, а по ряду тестов даже превосходит их.

Пример 7. Влияние Лимонеола на антиоксидантную функцию печени при токсическом интоксикации СС14.

Известно, что в патогенезе токсических поражений печени СС14 значительная роль отводится перекисному окислению липидов. Избыточные концентрации продуктов ПОЛ могут служить причиной

некроза клеток и нарушения физико-химических свойств клеточных мембран [13,14,15,16].

Исходя из этого и с целью уточнения механизма гепатозащитного действия Лимонеола нами были изучены антиоксидантные свойства испытуемого вещества при подострой токсической поражении печени СС1₄.

Согласно полученным данным, подострое отравление крыс гепатотоксином сопровождается выраженной активизацией процессов свободно-радикального окисления, накоплением продуктов ПОЛ – гидроперекисей липидов (ГПЛ) и малонового диальдегида (МДА).

Уровень вышеуказанных продуктов ПОЛ в сыворотке крови животных контрольной группы составил $3,4 \pm 0,4$ и $2,25 \pm 0,06$ против $1,8 \pm 0,04$ и $1,2 \pm 0,2$ нмоль/мг белка у интактных крыс соответственно. Уровень указанных продуктов ПОЛ в гомогенатах ткани печени крыс контрольной группы по сравнению с интактными повышался на 88% и 108% соответственно. (табл.13).

У леченных Лимонеолом в дозах 0,01 и 0,02 г/кг массы в течение 1 месяца крыс наблюдали выраженный антиоксидантный эффект, свидетельством которого явилось улучшение соответствующих показателей опытных крыс по сравнению с контрольными. Содержания МДА как в сыворотке крови животных получавших Лимонеол в указанных дозах снижалась на 29,4% и 35,3%, а показатель ГПЛ на 24,44% и 33,3% соответственно.

Указанные показатели в гомогенатах из ткани печени по сравнению с контрольными животными уменьшались соответственно на 39%, 43%, 46% и 35,3% соответственно.

Препараты сравнения также оказали положительный антиоксидантный эффект, однако по некоторым показателям уступали испытуемому средству.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что Лимонеол оказывает умеренно выраженное антиоксидантное воздействие на процессы свободно радикального окисления, о чем свидетельствует уменьшение концентрации МДА и ГПЛ как в сыворотке крови, так и в гомогенатах из ткани печени.

В патогенезе токсического гепатита значительная роль отводится участию продуктов ПОЛ, избыточная концентрация которых может служить причиной некротического изменения гепатоцитов вслед-

ствие нарушения физико-химических свойств клеточных мембран. Согласно полученным результатам, подострое поражение крыс СС1₄ сопровождается активацией процессов свободно-радикального окисления, накоплением гидроперекисей липидов и малонового диальдегида, что обусловлено агрессивным воздействием метаболитов гепатотоксина, в частности, радикала - СС1₃, который образуется при биотрансформации СС1₄ в эндоплазматическом ретикуле гепатоцитов. У леченных Лимонеолом, крыс наблюдается достоверное снижение уровня ГПЛ и МДА в гомогенатах ткани печени, что подталкивает к дальнейшему изучению возможности использования исследуемых средств для лечения и профилактики токсических и медикаментозных поражений печени, лечения воспалительных заболеваний, в основе которых лежит инициация свободно-радикального окисления.

Согласно полученным результатам можно сделать следующее заключение;

1. Средство «Лимонеол» на интактных и пораженных тетрахлорметаном крысах оказывает выраженный желчегонный эффект.

2. Средство «Лимонеол» наряду с желчегонными свойствами улучшает химизм желчи, нарушенный под воздействием гепатотоксина.

3. Улучшает антитоксическую и экскреторную функцию печени.

4. Достоверно снижает повышенную под воздействием тетрахлорметана активность маркеров цитолитического синдрома (АЛТ, АСТ), холестаза ЩФ и ГГТ, что свидетельствует о гепапротекторных свойствах Лимонеола.

5. Улучшает показатели липидного, белкового и углеводного (ОХС, ОЛ, ТГ, ФЛ, β-липопротеидов, билирубина, гликогена, сиаловых кислот) состава крови нарушенный влиянием тетрахлорметана.

6. Средство «Лимонеол» на фоне токсического воздействия тетрахлорметана достоверно снижает активность показателей пероксидации малонового диальдегида (МДА) и гиперперекисей липидов (ГПЛ), что свидетельствует об антиоксидантных свойствах испытуемого средства.

Формула изобретения

Средство, обладающее желчегонным, холелитическим и гепапротекторным действием, содержащее растительное масло, отличающееся тем, что дополнительно содержит эфирное масло лимона

Мейера (Citrus Meyeri Tan) при следующем соотношении компонентов; мас.г.:

Эфирное масло лимона Мейера	- 0,01-0,02
Масло растительное	остальное.

Таблица 1. Желчегонные свойства Лимонеола у интактных крыс.

Серия опытов и дозы в г /кг	Количество желчи в мг/100г/массы в секунд-через			
	1.час	2-часа	3-часа	Всего за 3-часа
Интактный	3,0± 0,001	3,2±0,001	2,8±0,006	9,0±0,003
Лимонеол-0,01	4,0±0,001*	3,8±0,001*	3,2±0,003	11,0±0,0025
Лимонеол-0,02	4,3±0,01*	4,0±0,004*	3,9±0,004*	12,2±0,005
Жирозитал 0,02	4,5±0,003**	4,3±0,003**	3,9±0,002*	12,7±0,0026
ЭММ-0,02	4,0±0,002*	3,9±0,001*	3,6±0,04*	11,5±0,0023
Карсил-0,05	3,2±0,0011	3,0±0,002	2,8±0,001	9,0±0,0017

Примечание; Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,001^{**}$

Таблица 2. Влияние Лимонеола, (0,01 и 0,02 г/кг массы) на химический состав желчи у белых крыс (n=8-10)

Серия опытов и дозы в г/кг	Показатели химического состава желчи в				
	ХС, ммоль/л	СЖК, ммоль/л	ХК ммоль/л	ФЛ, г/л	ХХК
1.Контроль	2,00±0,68	27,50±0,91	10,80±0,44	4,2±0,4	13,3±0,6
Лимонеол, 0,01	1,70±0,68	32,70±1,14	10,30±0,33	5,3±0,7	20,7±0,4
	$P < 0,05$			$P < 0,05$	$P < 0,05$
Лимонеол, 0,02	1,66±0,71	38,50±0,97	9,00±0,19	6,3±0,4	23,2±0,7
	$P < 0,05$	$P < 0,05$		$P < 0,001$	$P < 0,001$
10.ЭММ 0,02	1,58±0,1	32,40±0,46	9,8±0,40	5,1±0,4	21,6±0,4
	$P < 0,05$	$P < 0,01$		$P < 0,05$	$P < 0,001$
11.Жирозитал,0,02	1,68±0,1	35,50±3,50	9,80±0,48	6,2±0,6	24,0±0,04
	$P < 0,05$	$P < 0,05$		$P < 0,05$	$P < 0,001$
12. Карсил 0,05	1,70±0,01	34,00±0,30	10,00±0,42	5,7±0,3	22,0±0,6
	$P < 0,05$	$P < 0,05$		$P < 0,05$	$P < 0,05$

Примечание; Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными.- $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,001^{**}$

Таблица 3. Желчегонные свойства Лимонеол на фоне интоксикация СС14

Серия опытов и дозы в г /кг	Количество желчи в мг/100г/массы в секунд			
	Через час	Через 2-часа	Через 3-часа	Всего за 3-часа
Интактные	3,2± 0,001	3,0±0,001	3,0±0,006	9,2±0,003
СС14 2 мл/кг через день 1 месяц.				
Контрольные	2,1±0,001**	1,75±0,001**	1,6±0,003**	5,45±0,0016
Лимонеол-0,01	4,0±0,01**	3,8±0,002**	3,6±0,003**	11,4±0,002
Лимонеол-0,02	4,2±0,003**	4,0±0,001**	3,68±0,003**	11,88±0,0025
Жирозитал 0,02	3,6±0,005**	3,3±0,001**	3,1±0,001**	10,0±0,0026
ЭММ-0,02	4,0±0,002**	3,5±0,003**	3,15±0,006**	10,65±0,0036
Карсил-0,05	3,4±0,0011**	3,1±0,002**	2,8±0,001**	9,3±0,0013

Примечание; Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными.- $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,001^{**}$

Таблица 4. Влияние Лимонеола, (0,02 г/кг массы) на химический состав желчи при подостром токсическом поражении печени CCl_4 (n=8)

Группа животных, доза	Показатели химического состава желчи				
	ХС, ммоль/л	СЖК, ммоль/л	ХК ммоль/л	ФЛ г/л	ХХК
1.Интактные	2,37±0,18	30,1,0±0,60	7,0±0,98	3,5±0,7	12,7±0,9
Подострая интоксикация крыс CCl_4 2 мл/кг через день 1 мес.					
2.Контроль	2,0±0,05*	21,0±0,24**	10,7±0,13*	1,8±0,3**	10,4±0,6*
3.Лимонеол, 0,02 г/кг	2,34±0,01**	37,92±0,24**	8,90±0,19*	4,8±0,1**	16,9±0,9**
4.Лимонеол, 0,02 г/кг	2,35±0,13*	39,5±1,10**	8,2±0,40*	4,4±0,4*	15,5±1,2*
8.Жирозиталь, 0,02 г/кг	2,36±0,63*	38,88±3,1**	8,0±0,64*	4,7±0,8**	15,8±0,6*
9. ЭММ. 0,02 г/кг	2,4±0,11*	36,6±2,88*	9,02±0,12*	4,2±0,1**	15,2±0,9*
10.Карсил, 0,05 г/кг	2,3±0,03 P<0,05	29,0±0,36 P<0,05	8,47±0,16 P<0,001	4,8±0,04 P<0,001	11,7±0,6 P<0,05

Примечание: Значение P для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,001^{**}$

Таблица 5. Выживаемость крыс при подостром и хроническом токсическом поражении печени CCl_4 на фоне лечения препаратами эфирных масел (0,02 г/кг)

Группа животных	Число крыс в серии	Из них		Выжило, %
		Выжило	Погибло	
1.Интактные	6	6	-	100
Подострая интоксикация CCl_4				
2.Контроль	8	6	2	75
3. Лимонеол	8	8	-	100
4.Жирозиталь	8	8	-	100
5. ЭММ	8	7	1	87,5
6.Карсил	8	8	-	100

Таблица 6. Показатели массы тела крыс при токсическом гепатите и введении препаратов эфирных масел (0,2 г/кг массы)

Группа животных	Масса тела, г/%		
	Фон	15 сут	30 сут
1.Интактные	195,5±4,4 100	235,0±8,6 120	255,4±5,2 131
Подострая интоксикация крыс CCl_4			
2.Контроль	191,4±3,2 100	205,0±4,9 107	208,0±3,3 109
3.Лимонеол, 0,02 г/кг	193,5±3,6 100	235,0±5,9 122	240,5±3,3 124
8.Жирозиталь, 0,02 г/кг	190,0±7,0 100	232,8±2,8 123	250,5±3,0 132
9. ЭММ- 0,02 г/кг	185,0±1,1 100	225,6±3,6 122	242,2±5,1 131
10.Карсил, 0,05 г/кг	189,0±3,8 100	234,5±4,2 124	255,8±3,6 135

Примечание: Значение Р для контрольных крыс дано по отношению к интактным, а для получавших испытываемые препараты по отношению к контрольным.

Таблица 7. Влияние Лимонеола на антитоксическую функцию печени на фоне острого и подострого токсического гепатита. (n=8)

Серия опытов и дозы в г/кг	Показатели барбамилового сна в мин/%-барбамил-50 мг/кг массы.			
Интактные	70,0±2,5	100%	65,0±1,5	100%
СС14 4 мл/кг через день 7 суток			СС14-2мл/кг через день 1мес.	
Контрольные	185,0±6,7**	164%	170,0±3,7**	161,5%
Лимонеол-0,01	130,0±3,3*	30%	120,0±2,3*	29,4%
Лимонеол-0,02	122,0±3,6*	34%	117,0±3,0*	31,2%
Жирозитал 0,02	132,0±3,0*	28,64%	121,0±2,6*	28,82%
ЭММ-0,02	133,5±2,9*	28,1%	118,0±2,2*	30,6,1%
Карсил-0,05	130,5±3,0*	29,7%	119,5±2,9*	29,7%

Примечание: Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,001^{**}$

Таблица 8. Влияние испытываемых средств на показатели маркеров цитолитического синдрома на фоне токсического гепатита(n=8)

Серия опытов и дозы в г/кг	Показатели ферментов в	
	АЛТ-мкмоль/л	АСТ-мкмоль/л
Интактные	4,2±0,02	2,1±0,01
СС!4 -2 мл/кг через день 1 мес.		
Контрольные	7,9±0,03**	4,1±0,012**
Лимонеол-0,01	5,8±0,01*	2,3±0,05**
Лимонеол-0,02	5,0±0,02*	2,0±0,03**
Жирозитал 0,02	5,5±0,01*	3,8±0,02*
ЭММ-0,02	5,6±0,015*	3,0±0,05*
Карсил-0,05	4,9±0,04**	2,9±0,01**

Примечание; Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,001^{**}$

Таблица 9. Влияние испытываемых средств на показатели маркеров цитолитического синдрома на фоне токсического гепатита (n=8)

Серия опытов и дозы в г/кг	Показатели ферментов в	
	ЩФ-мг%	ГГТ-ммоль/л
Интактные	500,0±10,5	320,0±8,2
СС!4 -2 мл/кг через день 1 мес.		
Контрольные	1300,0±16,8**	740,0±9,7**
Лимонеол-0,01	850,0±7,6**	386,0±6,4**
Лимонеол-0,02	820,0±7,5**	375,0±5,3**
Жирозитал 0,02	900,0±9,9*	450,0±7,2*
ЭММ-0,02	910,0±10,8*	420,0±6,6*
Карсил-0,05	890,0±7,4**	400,0±4,8**

Примечание; Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,00$

Таблица 10. Влияние испытуемых средств (0,02 г/кг) на липидный состав и содержание билирубина сыворотки крови крыс при подостром токсическом поражении печени СС1₄ (n=8)

Группа Животных и дозы в г/кг	Общие липиды, г/л	ОХС ммоль/л	Билирубин ммоль/л	ФЛ г/л	β-ЛПП ммоль/л	ТГ ммоль/л
1.Интактные	4,3±0,9	2,1±0,5	7,2±1,2	2,5±0,2	4,6±0,8	1,3±0,2
Подострая интоксикация крыс СС1 ₄ , 2 мл/кг через день 1 мес.						
2.Контроль	7,1±1,0 P<0,001	3,9±0,2 P<0,001	16,6±1,1 P<0,001	1,4±0,2 P<0,001	14,3±1,4 P<0,001	4,0±0,6 P<0,001
3.Лимонеол 0,01	5,8±0,6 P<0,01	2,8±0,7 P<0,05	9,6±0,9 P<0,05	2,3±0,6 P<0,001	7,9±1,0 P<0,001	2,2±0,8 P<0,001
4.Лимонеол 0,02	5,3±0,2 P<0,05	2,9±0,8 P<0,001	9,0±1,3 P<0,001	2,6±0,1 P<0,001	7,3±0,9 P<0,001	2,0±0,3 P<0,001
8.Жирозитал 0,02	5,2±0,5 P<0,05	2,7±0,6 P<0,05	9,6±1,5 P<0,05	2,2±0,3 P<0,001	7,6±0,9 P<0,001	2,2±0,5 P<0,001
9.Карсил 0,05	5,0±0,8 P<0,05	2,6±0,4 P<0,001	9,1±1,3 P<0,05	2,4±0,7 P<0,001	7,1±0,9 P<0,001	1,9±0,1 P<0,001

Примечание: Значение P для контрольных дано по отношению к интактным животным, а для леченных – по отношению к СС1₄.

Таблица 11. Влияние испытуемых средств на показатели гликогена на фоне токсического гепатита (n=8)

Серия опытов и дозы в г/кг массы	Показатели гликогена в г%	
Интактные	390,0±3,2	100%
Подострая интоксикация крыс СС1 ₄ , 2 мл/кг через день 1 мес.		
Контрольные	210,0±2,8	46,1
Лимонеол-0,01	290,0±3,1**	38%
Лимонеол-0,02	360,0±2,5*	71 %
Жирозитал 0,02	280,1±2,1*	33,33%
ЭММ-0,02	350,0±2,9**	66,66%
Карсил-0,02	290,0±2,4*	38%

Примечание: Значение P для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - P≤0,05* -P≤0,001**

Таблица 12. Влияние испытуемых средств на показатели сиаловых кислот на фоне токсического гепатита (n=8)

Серия опытов и дозы в г/кг массы	Показатели гликогена в г%	
Интактные	36,0±0,8	100%
Подострая интоксикация крыс СС1 ₄ , 2 мл/кг через день 1 мес.		
Контрольные	21,0±0,6**	41,66
Лимонеол-0,01	32,5±0,98**	54,6%
Лимонеол-0,02	34,5±0,5**	64,76%
Жирозитал 0,02	33,1±0,6**	57,6%
ЭММ-0,02	34,5±0,9**	64,2%
Карсил-0,05	34,2±0,4**	62,8%

Примечание; Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - $P \leq 0,001^{**}$

Таблица 13. Влияние Лимонеола на активность показателей пероксидации на фоне токсической интоксикации СС14(n=8)

Серия опытов и дозы в г/кг массы	Показатели пероксидации в тканях печени и сыворотке крови в			
	Тканях печени		Сыворотке крови	
	МДА- нмоль/мг белка	ГПЛ- нмоль/мг белка	МДА- нмоль/мг белка	ГПЛ- нмоль/мг белка
Интактные	2,8±0,08	1,8±0,02	1,8±0,01	1,2±0,001
Подострая интоксикация крыс СС14, 2 мл/кг через день 1 мес.				
Контрольные	7,2±0,5**	5,0±0,1**	3,4±0,02**	2,25±0,06**
Лимонеол-0,01	4,4±0,2**	2,3±0,05**	2,4±0,04*	1,7±0,01*
Лимонеол-0,02	4,1±0,1**	2,2±0,04**	2,2±0,01**	1,5±0,02**
Жирозитал 0,02	4,8±0,23**	3,5±0,02**	2,6±0,06*	1,7±0,01*
ЭММ-0,02	5,1±0,6*	2,5±0,07**	2,2±0,01**	1,5±0,05**
Карсил-0,05	3,9±0,4**	2,9±0,01**	2,3±0,04**	1,6±0,03*

Примечание; Значение Р для контрольных дано по сравнению с интактными, а для опытных по сравнению с контрольными животными - $P \leq 0,05^*$ - $P \leq 0,001^{**}$

Компьютерный набор: Нигораи А.

Заказ	Тираж	Подписное
Национальный патентно-информационный центр РТ 734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а		