

ШАРОФОВА МИЖГОНА УМЕДЖОНОВНА

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ,
ПРИМЕНЯЕМЫХ В МЕДИЦИНСКОЙ СИСТЕМЕ АВИЦЕННЫ
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДИАБЕТА**

14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология

(медицинские науки)

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и ЦНИЛ Таджикского государственного медицинского университета имени Абуали ибни Сино Министерства здравоохранения социальной защиты населения Республики Таджикистан

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Ших Евгения Валерьевна

доктор медицинских наук, профессор

Нуралиев Юсуф Нуралиевич

Официальные оппоненты:

Арзамасцев Евгений Вениаминович доктор медицинских наук, профессор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Минздрава России, лаборатория лекарственной токсикологии, руководитель лаборатории.

Лесиовская Елена Евгеньевна доктор медицинских наук, профессор, ФГБУН «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства», ведущий научный сотрудник.

Батищева Галина Александровна доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО Воронежского государственного медицинского университета имени Н.Н. Бурденко Минздрава России, кафедра клинической фармакологии, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (ФГБНУ ВИЛАР) Министерство науки и высшего образования Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 2019 года в _____ ч. на заседании диссертационного совета ДС 208.040.13. при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, улица Трубецкая д. 8, стр. 2. Диссертация доступна для ознакомления в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, Москва, Зубовский бульвар, 37/1 и на сайте <https://sechenov.ru/>.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 года

Ученый секретарь диссертационного совета

д.м.н., профессор

Дроздов Владимир Николаевич

Актуальность темы исследования. Лечение сахарного диабета (СД), несмотря на достижения современной медицины, остаётся сложной задачей [Home P.D. et al., 2015; Storgaard H. et al., 2016]. Вестернизация образа жизни населения большинства регионов земного шара, характер питания, этнические особенности отдельных групп людей и многие другие факторы прямо или косвенно способствуют ускоренному распространению данной патологии [Асфандиярова Н.С., 2015; Bragg F. et al., 2017]. Реальное число людей, страдающих сахарным диабетом, как минимум в два раза превышает официально зарегистрированное число больных с установленным диагнозом СД 2 типа [Gonzalez-Bulnes A. et al., 2016; Suganya N. et al., 2016; Shi Y., Vanhoutte P. M., 2017].

Изучение богатого наследия древней медицины и практического опыта таджикского средневекового врача-энциклопедиста Абу Али ибн Сино открывает возможность новых терапевтических подходов к лечению ряда неинфекционных заболеваний, в частности СД, на основе учения Авиценны о «мизадже» и диабетогенезе [Абу Али ибн Сина, 2010; Aisa H. et al., 2015; Miraj S. et al., 2016].

Развитие комплементарной медицины привело к значительному повышению интереса к фитотерапии СД. Методы медикаментозной и немедикаментозной терапии диабета, основанные на понимании «натуры» организма человека, подходов к составу продуктов питания и механизмам действия средств природного происхождения, предложенных Авиценной в «Каноне врачебной науки», в настоящее время являются предметом исследований учёных в различных областях современной медицины [Aisa H. et al., 2015; Miraj S. et al., 2016; Sharofova M., 2017].

Многогранность лечебных эффектов; мягкая, физиологическая коррекция патологических состояний; хорошая переносимость при длительном применении фитосредств, соответствующих региону проживания, отмечена в многочисленных научных исследованиях. Необходимость разработки новых, эффективных фитопрепаратов на основе богатого отечественного лекарственного сырья всесторонне поддерживается Президентом Республики Таджикистан.

Применение современных экспериментальных доклинических моделей; высокоточных методов фитохимического анализа; изучение *in silico* взаимодействия биологически активных компонентов с белками-мишенями антидиабетических средств позволяют провести на современном научном уровне разностороннее фармакологическое

изучение лекарственных растений, применяемых в медицинской системе Авиценны, определить перспективность разработки на их основе лекарственных средств для лечения сахарного диабета, что является актуальным направлением для проведения исследований.

Степень разработанности темы исследования. Приоритетной задачей современной медицины является сохранение здоровья общества и профилактика болезней. Исследование и разработка растительных лекарственных препаратов для лечения социально-значимых заболеваний, в число которых включается и СД, приобретает всё большую актуальность в наши дни. Современная медицина практически не использует опыт древних врачей, в частности, Авиценны, у которого в основе подходов к терапии заболеваний лежит учение о нарушении «мизаджа», коррекция которого проводилась при помощи природных средств, в основном, пищевого предназначения [Нуралиев Ю.Н. и др., 2015; Шарофова М.У. и др., 2015; Sharofova M. et al., 2017]. На сегодняшний день лекарственно-пищевые растения практически не используются врачами и пациентами при лечении СД [Дедов И.И., 2011, 2012, 2013], что связано, в том числе и с недостаточной изученностью содержания активных веществ и возможных механизмов действия. Не проведено изучение лекарственных растений, применяемых в медицинской системе Авиценны на экспериментальных моделях сахарного диабета; не изучено влияние активных компонентов на ферменты протеин-тирозинфосфатазу 1В (РТР-1В), который играет ключевую роль в формировании резистентности к инсулину, и α -глюкозидазу, участвующую в гидролизе углеводов. Недостаточно изучены антиоксидантная активность лекарственных растений с использованием энзимных методов, в частности анализа с DPPH, а также *in vitro* антимикробные свойства лекарственных растений.

Целью исследования: является разработка новых лекарственных средств на основе результатов экспериментальных исследований состава и фармакологических свойств лекарственных растений, рекомендованных Абу Али ибн Сино для лечения диабета.

Задачи исследования:

1. Проанализировать теорию Авиценны о сущности диабетогенеза, исходя из учения о «мизадже» и особенности лечения диабета с учётом тактики терапии «подобное подобным» и «противоположное противоположным».
2. Провести экспериментальное изучение внутрижелудочного введения свежесжатого сока лимона на развитие метаболических нарушений у лабораторных животных.

Основываясь на учении Авиценны оценить диабетогенную роль метаболического ацидоза.

3. Методом энергодисперсионного рентгеновского анализа изучить элементный состав лекарственных растений, описанных в «Каноне врачебной науки» в качестве антидиабетических средств.
4. Изучить гипогликемическое действие экстрактов надземных частей чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), предложенной Авиценной для терапии диабета на модели аллоксанового диабета у экспериментальных животных.
5. Изучить гипогликемическое действие экстрактов бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.), рекомендованного Авиценной для терапии диабета на модели аллоксанового диабета и инсулинорезистентности у экспериментальных животных.
6. Изучить гипогликемическое действие экстрактов герани холмовой (*Geranium collinum* Steph.), рекомендованной Авиценной для терапии диабета на модели аллоксанового диабета у экспериментальных животных.
7. Изучить ингибирующее действие экстрактов герани холмовой (*Geranium collinum* Steph.), изолированных соединений, идентифицированных в экстрактах герани холмовой и в сборе «Новобет» на ферменты протеин-тирозинфосфатазу 1B (PTP-1B), α -глюкозидазу методами *in vitro* и *in silico*; изучить антиоксидантную активность исследуемых экстрактов *in vitro* с использованием ферментативного метода на DPPH.
8. Методом масс-спектрометрии (MS, ¹H- и ¹³C-ЯМР, включая HMQC, HMBC и DEPT) дать фитохимическую характеристику экстрактов *Geranium collinum* Steph. и идентифицировать основные изолированные соединения.
9. Методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии (LC/ESI-MS-MS) идентифицировать биологически активные соединения в составе сбора «Новобет».
10. Изучить антимикробную активность экстрактов надземных частей *Nigella sativa* L., экстрактов *Helichrysum thianschanicum* Regel., экстрактов *Geranium collinum* Steph. и сбора «Новобет».

Новизна исследования. Впервые составлен список русско-латинских названий 84 лекарственных средств, рекомендованных Авиценной для терапии инсулинорезистентности и диабета, разработана классификация данных средств по происхождению и кислотно-основным характеристикам. Впервые установлено

соответствие «холодного мизаджа» ацидному состоянию КОС крови и внутренней среды организма, лежащее в основе двух фармакологических законов по Авиценне – принципов терапии «подобное-подобным» и «противоположное-противоположным». Впервые качественный анализ элементного состава гомогената растений, используемых Авиценной для терапии диабета, продемонстрировал высокое содержание в исследуемых образцах щелочных и щелочноземельных металлов, что оказывает действие на организм по принципу «противоположное противоположным».

Впервые проведена сравнительная оценка результатов изучения гипогликемического действия на модели аллоксанового диабета у экспериментальных животных экстрактов надземных частей *Nigella sativa* L. и *Helichrysum thianschanicum* Regel. из Дарвазского района (2400 м. над уровнем моря), экстрактов *Geranium collinum* Steph. из долины Хушиори (1400 над уровнем моря), широко произрастающих в предгорных и горных районах различных регионов Республики Таджикистан (на высотах от 800 до 3000 м. над уровнем моря).

Впервые методами *in silico* и *in vitro* изучено ингибирующее действие экстрактов герани холмовой (*Geranium collinum*), 10 изолированных соединений из *Geranium collinum* Steph. и сбора «Новобет» на ферменты протеин-тирозинфосфатазу 1В (PTP-1B), который играет ключевую роль в формировании резистентности к инсулину, и α -глюкозидазу, участвующую в гидролизе углеводов после приёма пищи. Наиболее выраженная активность установлена для катехина, эпикатехина, корилагина и кверцетина.

Впервые выявлена антимикробная активность изученных экстрактов *Helichrysum thianschanicum* Regel. в отношении стандартного лабораторного штамма *Staphylococcus aureus*.

Впервые с применением масс-спектрометрии LC-ESI-MS/MS было идентифицировано 25 фенольных соединений с выраженной антидиабетической и антиоксидантной активностями в составе нового антидиабетического сбора «Новобет».

Теоретическая и практическая значимость. Автором в экспериментальных исследованиях применена модифицированная модельная методика, основанная на принципе «подобное подобным» и «противоположное противоположным» на основе учения Ибн Сины о диабетогенезе. Составлен перечень русско-латинских названий 84 лекарственных растений, рекомендованных Авиценной для терапии диабета, которые

являются перспективными для дальнейшего углублённого изучения с целью создания новых лекарственных средств. Качественный анализ гомогената растений подтвердил преобладание в элементном составе щелочных и щелочноземельных элементов.

На модели аллоксанового диабета у экспериментальных животных подтверждена гипогликемическая активность экстрактов надземных частей *Nigella sativa* L., экстрактов *Helichrysum thianschanicum* Regel., экстрактов *Geranium collinum* Steph.

Методом *in silico* и *in vitro* продемонстрирована эффективность действия суммарного экстракта *Geranium collinum* Steph. и изолированных соединений катехина, эпикатехина, корилагина и кверцетина на ферменты РТР-1В и α -глюкозидазу.

Материалы по результатам доклинического исследования сбора «Новобет» представлены в Фармакологический Комитет Министерства Здравоохранения Республики Таджикистан для получения разрешения на клинические исследования.

Результаты исследования включены в образовательные программы студентов медицинских ВУЗов и колледжей, практикующих семейных врачей и эндокринологов, что позволит применить новые подходы к выбору лекарственных растений для лечения и профилактики гипергликемии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Тактика терапии «подобное подобным» по Авиценне - применение кислотных (окисляющих) продуктов питания и медикаментов, усугубляет состояние ацидоза при диабете и не может быть использована.
2. Тактика терапии «противоположное противоположным», с целью нейтрализации состояния метаболического ацидоза может быть использована при диабете.
3. В элементном составе лекарственных растений, описанных в «Каноне врачебной науки» в качестве антидиабетических средств и наиболее часто применявшиеся Авиценной, преобладают щелочные и щелочноземельные элементы.
4. В экспериментальном исследовании у животных с аллоксановым диабетом экстракт герани холмовой (*Geranium collinum* Steph.) продемонстрировал максимальный эффект по снижению уровня глюкозы и уровня гликолизированного гемоглобина по сравнению с другими изученными экстрактами.
5. Экстракты герани холмовой (*Geranium collinum*) и сбора «Новобет» обладают ингибирующим действием на ферменты протеин-тирозинфосфатазу 1В (РТР-1В) и α -глюкозидазу.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается применением сертифицированного оборудования, откалиброванного согласно имеющимся руководствам по эксплуатации. Исследования проведены на биохимическом анализаторе “Stat Fax 1904 Plus” (США), с использованием набора «Глюкогенотест», «Elta» и «Витал-Диагностикс» (Россия); методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC); определение антидиабетической активности исследуемых суммарных экстрактов и изолированных соединений проведены энзимными методами *in silico* и *in vitro* при помощи процедур ингибирования РТР-1В и α -глюкозидазы, антиоксидантную активность измеряли с использованием методики анализа абсорбции DPPH (Циньзянский технический институт физики и химии (ЦТИФХ) АН КНР); структуры чистых соединений были определены на основе 1D и 2D ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрического анализа данных (MS масс-спектрометрия и LC-ESI-MS/MS) (ЦТИФХ АН КНР); при изучении лекарственных средств были использованы спектроскоп EDX (Zeiss Ultra 55 FEG SEM, со сканирующим электронным микроскопом GEMIN, S260 CAMBRIDGE, Париж, Франция).

Для изучения концепции диабетогенеза по Авиценне использованы первоисточники: все пять томов «Канона врачебной науки» и медицинские трактаты. Для подтверждения подходов и тактики терапии диабета по Авиценне проведены современные исследования *in vitro* и *in vivo* для обоснования гипотез по теории «мизаджа». Выбор объектов исследования (растительный материал, экспериментальные животные), их количество было достаточным для научного обоснования полученных результатов. Методы исследования, использованные в диссертационной работе, соответствуют поставленным целям и задачам. Полученные данные обработаны с применением современных статистических методов. Сформулированные научные положения, выводы, рекомендации обоснованы полученными достоверными результатами исследования.

Основные результаты доложены на Международном симпозиуме «9th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (China, 2011), на годовых научно-практических конференциях с международным участием ТГМУ им. Абуали ибни Сино (Душанбе, 2011, 2012, 2014, 2018), на Международных симпозиумах по пищевым растениям и биоактивным ингредиентам (Китай, 2012, 2015), на конференции с

международным участием в АН РТ, посвященной 1000-летию «Канона врачебной науки» (Душанбе, 2013), на международных конференциях Российской Военно-медицинской академии (Санкт-Петербург, 2013, 2015, 2017), на международных научных конференциях ФГБНУ ВИЛАР (Москва, 2016, 2018); на конференциях с международным участием учреждения НДЦ РК (Казахстан, 2015, 2018); на заседании межкафедральной проблемной комиссии по теоретическим медицинским дисциплинам ТГМУ им. Абуали ибни Сино (протокол №1 от 05.06.2012 г.); на научном заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) протокол №5 от 11.06. 2019 г.

Внедрение результатов в практику. Результаты данной диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедр фармакологии с курсом клинической фармакологии, эндокринологии, фармакогнозии и организации экономики фармации, ЛФК и восточной медицины ТГМУ им. Абуали ибни Сино; в учебный процесс на кафедре клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Сеченовского университета. На основании данных диссертационного исследования изданы два учебных пособия для врачей.

Сделано два рационализаторских предложения в ТГМУ им. Абуали ибни Сино в соответствии с пунктом №5 «Типового Предложения о рационализаторской деятельности», утверждённого постановлением Совета Министров Республики Таджикистан от 12 августа 1992 г. №322:

-№3649/R700 «Использование настоя цветков и листьев бессмертника тынь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.) в качестве метаболизм-корректирующего и антидиабетического средства».

-№3648/R699 «Использование настоя и отвара надземных частей чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) в качестве метаболизм-корректирующего и антидиабетического средства».

Получены 2 патента на изобретение:

-Патент № TJ 45. Средство «Новобет», обладающее антидиабетическим действием.

-Патент № TJ 1018 «Способ моделирования инсулинорезистентности на белых крысах».

Публикации. По теме диссертации опубликовано 45 печатных работ, в том числе 22 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ (из них 11 оригинальных

статей); 5 статей с материалами собственных исследований опубликовано в иностранных журналах индексируемых в международных базах данных Scopus, Web of Science, Index Copernicus International (ICI); 5 монографий по проблеме применения лекарственных растений в профилактике и терапии сахарного диабета в Республике Таджикистан (из них одна электронная книга (E-book); 2 методических пособия, 2 патента.

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль на всех этапах исследования, включая скрининг и анализ литературы, проведение экспериментов на лабораторных животных, сбор лекарственных растений, подготовка растительных настоев, отваров и экстрактов, их фитохимические исследования, анализ и статистическая обработка полученных результатов, формулировка выводов и заключений по результатам исследований, написание всех глав диссертации, статей и книг по теме диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2, 3 и 4 паспорта специальности «фармакология, клиническая фармакология».

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 9 глав, заключения, выводов и практических рекомендаций; списка сокращений; приложений; списка литературы, содержащего 311 источников, в том числе 121 отечественных и 190 зарубежных. Объём диссертации составляет 242 страницы машинописного текста.

Работа иллюстрирована 49 таблицами и 43 рисунками.

Материалы и методы исследования

Теоретическая часть исследования. Учение Авиценны о «мизадже» и «очищении» организма, лежащее в основе понимания им процессов диабетогенеза, терапии и профилактики диабета, изучались путём проведения скрининга всех 5 томов его энциклопедического произведения «Канон врачебной науки», медицинских трактатов «ал-Вохия» («Свод рецептов»); «аш-Шифа» («Книга исцеления»), «Донишنامه» (Книга Знания), «Книга спасения», «Трактат о врачевании», «Трактат о лекарственных средствах», «Трактат о сердечных лекарствах», «Трактат о пульсе».

При проведении фармакологического скрининга изучались труды известных предшественников и современников Авиценны.

Ботанический и фитохимический скрининг проводился по современным литературным источникам, посвященным флоре Таджикистана, Средней Азии, Российской Федерации, Ирана, Афганистана, Болгарии и ряда других стран.

Экспериментальная часть исследования. Для подтверждения объективности общепармакологического принципа терапии «подобное подобным», проведены серии экспериментов на лабораторных животных. Разработана модель развития инсулинорезистентности под влиянием кислого продукта питания – свежесжатого лимонного сока (*Citrus limon* (Citrus×Meyerі Yu.Tanaka) и нитрата аммония (NH₄NO₃, аммиачная селитра) («Способ моделирования инсулинорезистентности на белых крысах». Патент № TJ 1018).

Аллоксангидратовый диабет моделировали подкожным введением свежесжатого 10% раствора аллоксангидрата (производства фирмы «Хемапол», Словакия) в дозировке 80 мг/кг массы, голодавшим не менее 15-18 часов белым беспородным крысам обоего пола со средней массой 150-220 граммов [Нуралиев Ю.Н., 1984].

Для подтверждения объективности общепармакологического принципа тактики терапии «противоположное противоположным» и определения антидиабетических свойств исследуемых лекарственных растений, образцы экстрактов, свежесжатых настоев и отваров фитосредств изучались *in vitro* и *in vivo* вводились группам кроликов с инсулинорезистентностью, предварительно экспериментально вызванной лимонным соком и группам белых крыс с диабетом, экспериментально вызванным аллоксангидратом.

Экспериментальная модель инсулинорезистентности. Экспериментальная модель инсулинорезистентности была вызвана внутрижелудочным введением свежесжатого натурального лимонного сока (ЛС) *Citrus limon* (Citrus×Meyerі Yu.Tanaka) в качестве кислого продукта –диабетогена по 2мл и 5мл на один килограмм массы тела животного в течение 14 дней.

Эксперименты были проведены на 25 кроликах обоих полов со средней массой 1.8-2.0 кг. Сформированы 3 группы экспериментальных животных: 1-я группа (n=10) – контрольные животные, которые содержались в обычных условиях вивария на стандартном пищевом рационе; 2-я группа (n=8) – опытная, ежедневно получавшая ЛС как кислый продукт по 2 мл/на 1кг массы тела внутрижелудочно (в/ж) в течение 14 дней;

3-я группа (n=7) – опытная, ежедневно получавшая ЛС как кислый продукт по 5 мл/на 1 кг массы тела (в/ж) в течение 14 дней.

По окончании экспериментов у всех опытных животных собирали образцы крови из краевых вен уха в гепариновые пробирки классическими методами. Для определения pH крови использовали аппарат «pH Marci-510» (Франция) и pH мочи – использовали аппарат pH-Биокан (Санкт-Петербург).

Определялись следующие показатели: гликолизированный гемоглобин A1c (Hb-A1c, % с использованием набора «Глюкогенотест», «Elta», Россия), гликемия (диагностические комплекты компании Vital, Санкт-Петербург). Определение биохимических показателей проводили при помощи тест-наборов фирмы «Витал-Диагностикс» (Россия) на биохимическом анализаторе “Stat Fax 1904 Plus” (США).

Резистентность к инсулину определяли путем подкожной инъекции 0.5 ЕД инсулина Actrapid Human на 1 кг массы тела животного и через 45 и 90 минут определяли уровень гликемии. Определение толерантности к глюкозе выполняли в/ж введением животным 2 г сахара на 1 кг массы тела. Через 60 и 180 минут анализировали уровень глюкозы в крови (ммоль/л).

Все экспериментальные протоколы были выполнены в соответствии с Европейской конвенцией об охране позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Совет Европы, 1986, ETS №123).

На проведение экспериментальных исследований получено разрешение локального этического комитета ФГАОУ Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) (№08-19 от 05.06.2019) и Комитета биомедицинской этики Академии медицинских наук при Министерстве здравоохранения и социальной защиты населения Республики Таджикистан (№2 от 19.08.2016 и №6 от 28.11.2018).

Фитохимические исследования. Исследования изучаемых образцов водного и водно-спиртовых (30%, 50%, 70%, 100%) экстрактов растений *in vitro* проводили на базе ЦТИФХ АН КНР (Урумчи) в период март-апрель 2017 года. Использовались химикаты и реагенты аналитического класса, на протяжении всего эксперимента использовалась бидистиллированная вода. Экстрагирование проводили с использованием обратного холодильника путём конденсирования паров, где достигался максимальный выход экстрактов. Оптимальное время экстракции было равно 2 часам.

Структуры чистых соединений были определены на основе 1D и 2D ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) и масс-спектрометрического анализа их спектральных данных (MS (масс-спектрометрия), ^1H - и ^{13}C -ЯМР, включая HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) – корреляция между химическими сдвигами протонов и химическими сдвигами ядер X; HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) – корреляция между протонами и ядрами X и DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer- позволяет различить сигналы четвертичных, метиновых, метиленовых и метильных атомов углерода в спектре ^{13}C) по сравнению с опубликованными литературными данными. Все суммарные и чистые изолированные соединения исследовались на антидиабетическую и антиоксидантную активность *in vitro*, методом *in silico* определялась способность ингибировать ферменты PTP-1B и α -глюкозидазу.

Определение общего содержания полифенолов и флавоноидов. Все водные и водно-спиртовые экстракты использовали для количественного определения общих полифенолов, флавоноидов и их фармакологической активности. Общее количество полифенольных соединений оценивали как эквиваленты галловой кислоты, используя метод Фолина-Чокалтеу. Количественная оценка содержания полных флавоноидов была основана на образовании комплекса между AlCl_3 и флавоноидами, присутствующими в экстрактах.

*Определение способности ингибировать PTP-1B и α -глюкозидазу методами *in vitro*, *in silico*, антиоксидантной активности.* Эксперименты *in vitro* были проведены энзимным методом при помощи процедур ингибирования PTP-1B и α -глюкозидазы, а также методом *in silico* для определения способности исследуемых суммарных экстрактов и изолированных соединений ингибировать PTP-1B и α -глюкозидазу [Oboh G. et al., 2016; Tiong S. et al., 2013].

Антиоксидантную активность измеряли с использованием методики анализа абсорбции DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил), опубликованной в литературе [Zhao Y. et al., 2013; Jaradat N.A. et al., 2016].

Определение антимикробной активности. Исследование антимикробной активности исследуемых экстрактов проводили методом диффузии в агар с использованием трёх стандартных штаммов микроорганизмов, применяемых в исследовательских целях: факультативно-анаэробные грамположительные кокки

Staphylococcus aureus ATCC 6538 (SA), факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки *Escherichia coli* ATCC 11229 (EC) и дрожжевые грибки *Candida albicans* ATCC 10231 (CA) производства «Microbiologics» (США). Результаты антимикробной активности оценивались по диаметру роста бактерий вокруг лунки в мм. [K. Vozorov, 2014; L. Jiang, 2015].

Определение содержания микроэлементов. Исследование содержания микроэлементов K, Na, Ca, Mg и Zn проводили на базе ЦТИФХ АН КНР с использованием микроволновой системы CEM MARS 5/MARS5 Digestion Microwave System и спектрометра VARIAN VISTA PRO ICP-OES Spectrometer.

Кроме того, высушенные и измельчённые части растений (семена, цветки, листья, стебли и корни) были отправлены на исследование в Университет Сорбонны (Париж Cité-Paris 7, клиника Lariboisière, INSERM U965, 75010 Paris, France для идентификации элементного состава материалов с использованием энергодисперсионного рентгеновского анализа (спектроскоп EDX Zeiss Ultra 55 FEG SEM, со сканирующим электронным микроскопом GEMIN, S260 CAMBRIDGE). Для каждого образца измеряли две-три зоны. По окончании измерений данные были выражены в виде атомных и массовых процентов [P. Stefanov, 1999; United States Environmental Protection Agency, 2002].

Экспериментальное изучение Helichrysum thianschanicum Regel. на модели инсулинорезистентности и аллоксанового диабета. Исследованы антидиабетические свойства настоя и экстрактов цветков бессмертника тянь-шаньского в экспериментах *in vivo* при инсулинорезистентности и аллоксангидратовом диабете у 66 лабораторных животных на экспериментальной модели инсулинорезистентности (30 кроликов) и аллоксангидратового диабета (36 белых беспородных крыс). Все животные содержались в одинаковых условиях вивария на стандартном пищевом рационе. При проведении экспериментов по моделированию инсулинорезистентности у всех животных определяли pH крови и мочи, резистентность к инсулину и толерантность к глюкозе, биохимические показатели, отражающие состояние углеводного, липидного и белкового обменов, функциональной активности печени, почек и отдельных ферментов.

Водный и водно-спиртовые экстракты, приготовленные по общепринятым методикам, далее исследовались *in vitro* фитохимическими методами (определение РТР-

1В, α -глюкозидазы, DPPH, содержания щелочных элементов K, Na, Ca, Mg, Zn и антимикробную активность на базе ЦТИФХ АН КНР) указанными выше.

Экспериментальное изучение чернушки посевной (Nigella sativa L.) на модели аллоксанового диабета. Надземные части растения были собраны в Дарвазском районе (2400м над уровнем моря) Республики Таджикистан в июле-августе 2016-2017 годов. Для проведения исследований *in vivo* готовились настой (1:10) из надземных частей и отвар (1:10) из семян растения. Для исследований *in vitro* готовили экстракты по вышеописанным методикам в лаборатории ЦТИФХ АН КНР (Урумчи).

Эксперименты *in vivo* были проведены на 48 белых беспородных лабораторных крысах-самцах со средней массой тела 150-220 граммов на базе ЦНИЛ ТГМУ им. Абуали ибни Сино. Животные были разделены на 4 группы по 12 крыс в каждой. Первая группа – интактные животные, остальные три группы – опытные крысы, у которых моделировали аллоксангидратовый диабет [Нуралиев Ю.Н., 2014, 2017; Шарофова М.У., 2014, 2017]. Опытным животным в/ж вводили в течение 14 дней по 0.2 мл дистиллированной воды, свежеприготовленный настой надземных частей (1:10) и отвар семян (1:10) соответственно на каждые 100г массы тела. По окончании эксперимента у всех животных оценивали биохимические показатели по вышеописанным методам с использованием тест-наборов фирмы «Витал-Диагностикс» (Россия) на биохимическом анализаторе “Stat Fax 1904 Plus” (США). Исследования экстрактов надземной части *Nigella sativa* L. *in vitro* проводились аналогично изучению *H. thianschanicum* Regel.

Экспериментальное изучение Geranium collinum Steph. Подземные части *G. collinum* были собраны в сентябре-октябре 2016 года из долины Хушиори (1400м над уровнем моря) Республики Таджикистан. Высушенные корневые части растений использовали для приготовления водного экстракта в соотношении (1:10) с дистиллированной водой при 90°C. Кроме того, по 100г сбора использовали для приготовления водно-спиртовых (30, 50, 70 и 100%) экстрактов.

Изучение гипогликемического действия *G. collinum* проведено на модели аллоксанового диабета (36 белых беспородных крыс). У всех животных определяли уровни pH крови и мочи, глюкозы, гликолизированного гемоглобина, общий белок, альбумин, амилаза, кальций, мочевины, мочевого кислоты, креатинин, холестерин, триглицериды, ЛПВП, АЛТ, АСТ, общий билирубин по вышеуказанным методикам.

Общие процедуры при проведении фитохимических исследований G.collinum.

Использовались абсолютный этиловый спирт и ацетон компании Tianjinshi Baishi Chemicals Company (Урумчи, Китай) и диметилсульфоксид (CH₃)₂SO; DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил); pNPP (p-nitrophenyl phosphate), NaOH, NaCl, витамин С, кверцетин (98%), галловая кислота (≥97%), хлорид алюминия, ацетат натрия и реагент Folin-Ciocalteu (2N) компании Sigma-AldrichGmbH (Steinheim, Германия).

ЯМР-спектры регистрировались на спектрометре Varian MR-400 (400 МГц для ¹H и 100 МГц для ¹³C). Точки плавления определяли с использованием устройства B-540 BUCHI (Sigma-Aldrich, Дармштадт, Германия). Колоночное хроматографическое разделение проводили на геле Sephadex LH-20 (Amersham Pharmacia Biotech, Стокгольм, Швеция) и силикагеле (100-200 mesh, Циндао Хэйянский химический завод, Циндао, Китай). Пятна на TLC-пластинке идентифицировали путём распыления 5% раствора H₂SO₄ в EtOH и нагреванием пластины при температуре около 105°C. Анализ UPLC проводился в системе Waters Acquity UPLC™ (Waters, Milford, MA, США), оснащённой насосом для подачи бинарного растворителя, автоматическим сэмплером и детектором фотодиодной матрицы (PAD). Инструмент контролировался программным обеспечением Waters Empower 2. Хроматографическое разделение проводили с использованием колонки Waters Acquity BEH Shield C18 (100 мм 2,1 мм, 1,8 мкм, Waters), работающей при 35°C.

Проведение процедур экстракции и изоляции чистых соединений из корней и корневищ G.collinum. Эффективность экстракции определяли на основе общей процентной величины количества экстрагированного вещества с использованием различных разведений этанола с водой (30%, 50%, 70%, 100%) и чистой воды с использованием процедуры экстракции обратным током. Каждый раз корневую часть *G.collinum* (100 г) тщательно взвешивали и экстрагировали каждым из вышеуказанных растворителей (500 мл) в течение 1, 2 или 3 ч. Экстракты высушивали при пониженном давлении. Сухой остаток 50% водного раствора этанола (8 г) тщательно перемешивали с 32 г сухого силикагеля (200-300 mesh). Смесь сушили в печи при 45°C и адсорбировали на 320 граммовой колонке с силикагелем (1500см×3.5см). Элюирование (извлечение) проводили в градиентном режиме, начиная с петролейного эфира-этилацетата (7:1). Полярность элюента постепенно увеличивалась с использованием петролейного эфира-этилацетата (4:1-0:1) и этилацетат-метанола (9:1-2:1) соответственно. Фракции

анализировали с помощью тонкослойной хроматографии на силикагеле с использованием подвижных фаз ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$, 65:35:5 и 73:24:4). Пятна были визуализированы путём нагревания силикагелевых планшетов при 110°C после распыления 5% H_2SO_4 в этаноле. Аналогичные фракции объединяли после разработки профилей тонкослойной хроматографии (ТСХ) с получением шести фракций. Фракцию 2 наносили на колонку с силикагелем (100-200 mesh) (750 см×3 см) и элюировали смесью хлороформ-метанола (8:1) с получением соединений 1,2,3. Соединение 4 получали из комбинированной фракции 3 на колонке Sephadex LH-20 (1200 см×1.5 см), элюируя смесью хлороформ-метанола (4:1). Фракцию 4 очищали метанол-хлороформом (9:1) на колонке Sephadex LH-20 (1200 см ≤ 1.5 см) с получением соединений 5 и 6. Чистые соединения 7 и 8 очищали из фракции 5 метанол-ацетоном (1:1) с использованием колоночной хроматографии Sephadex LH-20 (1200 см×1,5 см). Соединение 9 выделяли из фракции 6, используя метанол-воду (4:1) в качестве элюента с помощью колоночной хроматографии Sephadex LH-20 (1200 см ≤ 1.5 см). Соединение 10 выделяли из фракции 5 через UPLC с помощью детектора PAD на $R_t=18.26$ мин. Подвижная фаза состояла из 0.2% муравьиной кислоты-воды (A) и ацетонитрила (B) с градиентным элюированием 95% A (0-3 мин), 95%-90% A (3-20 мин), 90%-89% A (20-20,5 мин), 89% A (20.5-29 мин). Хроматограммы регистрировали при 254 нм, и скорость потока $250 \text{ мл} \cdot \text{мин}^{-1}$ использовали для инъекции 500 мл образца.

Определение общего количества полифенольных соединений и общего содержания флавоноидов в экстрактах G.collinum. Каждый высушенный корневой экстракт (по 1 г каждого) *G.collinum* восстанавливали в 20 мл 70% метанола и использовали для определения общего количества полифенольных соединений и общего содержания флавоноидов. Общее количество полифенольных соединений определяли методом Фолин-Чокалтеу [Phosrithong N., Nuchtavorn N., 2016; Qureshi, M.N. et al., 2014] с использованием галловой кислоты в качестве эталонного стандарта в диапазоне концентраций от 0.02 до 0.2 мг/мл в воде. Общее содержание флавоноидов оценивали по методике, принятой Numonov et al. (2015).

Изучение методом in silico ингибирующей способности G. collinum на PTP-1B и α -глюкозидазу. Активность фермента измеряли с использованием PTP-1B ((3- (3,5-дибром-4-гидроксibenзоил)-2-этилбензофуран-6-сульфоновой кислоты- (4- (тиазол-2-илсульфамил) фенил)-амида) в соответствии с данными литературы [Jiang L., 2015; Ali J.

et al., 2012; Bozorov K. et al., 2014; Yili A. et al., 2014]. Активность ингибирования α -глюкозидазы оценивалась в соответствии с хромогенным методом, описанным Мак-Кью с соавторами [McCue P. et al., 2005].

Молекулярная стыковка. Исследования протеин-лигандных стыковок проводились на основе кристаллических структур двух человеческих протеинтирозинфосфатаз 1B (Hs PTP 1B, PDB 3CWE [Han Y. et al., 2008] и PDB 4Y14) [Krishnan N. et al., 2015] и двух кристаллических структур α -глюкозидазы (человеческая сахароза-изомальтаза, HsSI, PDB 3LPP [Sim L. et al., 2010] и человеческая мальтаз-глюкоамилаза, HsMGAM, PDB 3TOP [Ren L. et al., 2011]). До стыковки все молекулы растворителя и сокристаллизованные лиганды удалялись из структур. Расчёт молекулярной стыковки всех соединений с каждым из белков проводили с использованием программы Molegro Virtual Docker (версия 6.0.1, Molegro ApS, Aarhus, Denmark) [Thomsen R., Christensen M.H., 2006], со сферой радиусом 15Å, достаточной, для вмещения полости, центрированной на участки связывания каждой структуры белка и возможности совершения поиска каждым лигандом. В исследованиях стыковки были использованы стандартные состояния протонирования белков на основе нейтрального pH. Каждый белок использовался как жёсткая модельная структура, релаксации белка не наблюдалось. Распределение зарядов на каждом белке были основаны только на стандартных шаблонах в рамках программы Molegro Virtual Docker. Структура каждого лиганда была построена с использованием Spartan16 для Windows (версия 2.0.1, WavefunctionInc., Irvine, CA, USA). Для каждого лиганда была выполнена оптимизация конформационного поиска и геометрии с использованием полей силы Merck Molecular Force Field (MMFF) [Halgren T.A., 1996]. При стыровке и последующей оптимизации схемы использовались модели гибких лигандов. Поиск и ранжирование переменных ориентаций каждого из лигандов проводились на основе их повторного ранжирования. Для каждого моделирования стыковки максимальное число итераций (повторов) для алгоритма стыковки было установлено на 1500, с максимальным размером популяции 50 и 30 для каждого лиганда. Порог RMSD (среднеквадратичное отклонение атомов в процессе) для нескольких позиций был установлен в 1.00Å. Сгенерированные позиции из каждого лиганда были отсортированы по расчётным баллам повторного ранжирования. Чтобы исправить известное смещение энергий стыковки (Edock) с увеличением молекулярной массы (MW) [Pan Y., 2003], мы также определили нормированную оценку

стыковки (DSnorm) на основе молекулярного веса: $DS_{norm} = 7.2 \times Edock / MW^{1/2}$ [Snow Setzer M. et al., 2016].

Антиоксидантная активность экстрактов G.collinum. Антиоксидантную активность измеряли с использованием методики анализа абсорбции DPPH (1,1-дифенил-2-пикрилгидразил), опубликованной в литературе [Jaradat N.A. et al., 2016; Zhao Y. et al., 2013]. Экстракты растворяли в ДМСО (диметилсульфоксид – важный биполярный апротонный растворитель) в концентрации 100 мкг/мл. Различные концентрации каждого экстракта были приготовлены в ДМСО. Растворы образцов разных концентраций добавляли в каждую лунку 96-луночного планшета по 2.5 мл. В каждую лунку добавляли 1 мл 0.3 мМ раствора DPPH в этаноле для получения тестовых растворов. ДМСО (1мл) добавляли для получения чистых растворов. Образец отрицательного контроля готовили смешиванием 1 мл раствора DPPH с 2,5 мл ДМСО. Растворы выдерживали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Абсорбция измерялась на длине волны 517 нм. В качестве стандартного образца использовали аскорбиновую кислоту (витамин С).

Фармакологическое и фитохимическое изучение сбора «Новобет». В ходе выполнения диссертационной работы было организовано 6 экспедиций по сбору лекарственных растений, входящих в состав сбора «Новобет». Подземные части *Geranium collinum* Steph. были собраны из долины Хушиори (1400 м над уровнем моря) Республики Таджикистан в сентябре-октябре месяце 2016-2017 годов, корни *Glycyrrhiza glabra* L. – в августе-сентябре в Ишкошимском районе Горно-Бадахшанской автономной области (3000 м над уровнем моря), а также в тот же период собирались плоды *Rhus coriaria* L. на территории Лесничного хозяйства «Ромит» района Вахдат (1300 м над ур. моря) Республики Таджикистан.

Экспериментальное обоснование процентного содержания отдельных компонентов антидиабетического сбора «Новобет» (корни герани 70 г, корни солодки голой 10г и плоды сумаха дубильного 20г), на физико-химическую и фармакологическую совместимость ингредиентов ранее было проведено нами *in vivo* (Патент № TJ 45).

Изучение *in vitro* водного и водно-спиртовых экстрактов антидиабетического сбора «Новобет», с определением гипогликемической, антиоксидантной и противомикробной активностей и выявлением содержания отдельных минералов, обладающих ощелачивающими свойствами, было проведено по вышеописанным методикам. Выявление биологически активных соединений в составе «Новобет» было проведено с

применением методики жидкостной хроматомасс-спектрометрии (LC/ESI-MS-MS) на базе Цинзяньского технического института физики и химии АН КНР.

Определение молекулярного состава некоторых образцов растений Таджикистана. Для идентификации элементного состава исследуемых образцов растений применялся энергодисперсионный рентгеновский анализ с использованием спектроскоп EDX (Zeiss Ultra 55 FEG SEM, со сканирующим электронным микроскопом GEMIN, S260 CAMBRIDGE). Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия основана на обнаружении характерных рентгеновских лучей, испускаемых элементом в результате перевозбуждения ядер электронов, создаваемых электронным пучком высоких энергий. В качестве источника возбуждения используется нормальный электронный луч сканирующего электронного микроскопа (SEM). Подключение энергии измерительного рентгеновского детектора к тонкому окну и элементам небольшой массы на SEM позволяет EDX измерять все элементы, начиная от углерода и далее, имеющие более высокую атомную массу. Спектр состоит из рентгеновских характеристик, излучаемых имеющимися элементами в образце на непрерывном фоне рентгеновского тормозного излучения, вызванного замедлением электронов высокой энергии пучками электронов в образце. Исследования элементного состава 14 из 84 антидиабетических средств, идентифицированных нами в медицинской системе Авиценны, были проведены в Университете Сорбонны (Париж Cité -Paris 7, клиника Lariboisière, INSERM U965, 75010 Paris, France).

Методы статистической обработки. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета статистических программ IBM SPSS Statistics 23.0.

Тип распределения количественных признаков определяли визуально (при построении гистограммы) и/или с применением критерия Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении количественных признаков их описание проводили с помощью среднего арифметического значения (M) $\pm$ стандартная ошибка среднего (m). При непараметрическом – вместо величины концентрации признака использовали логарифм этой концентрации, распределение которого было ближе к нормальному.

Качественные показатели представлены в долях (процентах), по ординальной (бальной) шкале и/или факту наличия признака. Гипотезу о равенстве средних двух несвязанных выборок проверяли с помощью двухвыборочного t-критерия Стьюдента [Ланг Т. А., Сесик М., 2011; Миронов А. Н. и др., 2012] с поправкой при статистически

значимом тесте Levene на гомогенность дисперсий в случаях нормального распределения, при непараметрическом распределении данных – с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Для сравнения средних величин двух связанных выборок использовали t-критерий для парных выборок, а при отличном от нормального распределения данных – критерий Уилкоксона.

Сравнение частотных признаков в независимых выборках выполнено с помощью критерия Пирсона χ^2 . Различие парных частотных признаков (значения до-после) определяли с помощью критерия МакНемара.

Проведен корреляционный анализ данных с определением коэффициента корреляции (r). В качестве критического уровня статистической значимости различий был принят уровень при $p < 0.05$.

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Основы диабетогенеза и тактика терапии диабета в медицинской системе Авиценны

Авиценна в своей медицинской системе опирался, прежде всего, на древнейшее учение о «мизадже» (натуре), считавшимся сущностью общих свойств каждого отдельного организма, практически утерянного на сегодняшний день [Нуралиев, 2010]. Следует подчеркнуть, что именно Авиценна всесторонне усовершенствовал древнейшее учение о «мизадже», развил его и разработал принципы «мизаджедиагностики» и «мизаджетерапии» [Бест Ч., 1964; Потемкин В.В., 1986; Шарофова М.У., 2017].

По Авиценне опасность употребления в пищу кислых продуктов и напитков, обладающих «холодным мизаджем», способствует сдвигу «мизаджа» организма в «холодную» сторону, т.е. лежит в основе процесса диабетогенеза [Uno K., Nicholls S.J., 2010; Giacco F., Brownlee M., 2010; Sharofova M. et al., 2016]. Именно поэтому, по Авиценне тактика терапии «подобное подобным», т.е. лечение ацидоза кислыми средствами, считалась неверной и способствовала ухудшению состояния больных [Нуралиев Ю. и др., 2015].

При составлении перечня лекарственных средств, которые Авиценна считал наиболее эффективными при лечении диабета, нами проведена идентификация арабских и таджикских названий каждого средства с дальнейшим определением русских и латинских названий растений, дифференцировка их ботанических названий и семейств, определение используемых частей растений, минералов, средств животного происхождения и лекарственные формы. Автором впервые был составлен список из 84

лекарственных растений, полученных в результате скрининга трудов Ибн Сино, его трактатов по медицине и соответствующих глав всех пяти томов «Канона врачебной науки». Выделено 14 лекарственных растений, наиболее часто использовавшихся Авиценной при лечении больных диабетом. Проведен анализ возможных взаимосвязей между свойствами «мизаджа» лекарственно-пищевых растений из регионов Таджикистана, натуры которых были идентифицированы как «горячие» или «холодные» по Авиценне, и содержанием в них щелочных элементов, таких как натрий, калий, кальций и магний, которые участвуют в физиологических процессах обеспечения гомеостаза организма. С использованием различных вариаций энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии как метода качественного химического анализа проведено определение содержания макро- и микроэлементов в гомогенатах 14 растений Таджикистана, наиболее часто встречающихся в качестве компонентов в рецептах Авиценны для лечения диабета (табл.1). Образцы были изучены с использованием энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии. На полученных спектрограммах всех образцов отмечалось преобладание щелочных и щёлочноземельных элементов (за исключением элементов-органогенов). На рисунке 1 представлены микрофотография и спектрограмма образца *Nigella sativa* L., на которой зафиксированы пики преобладающих элементов Na, Mg, K и Ca.

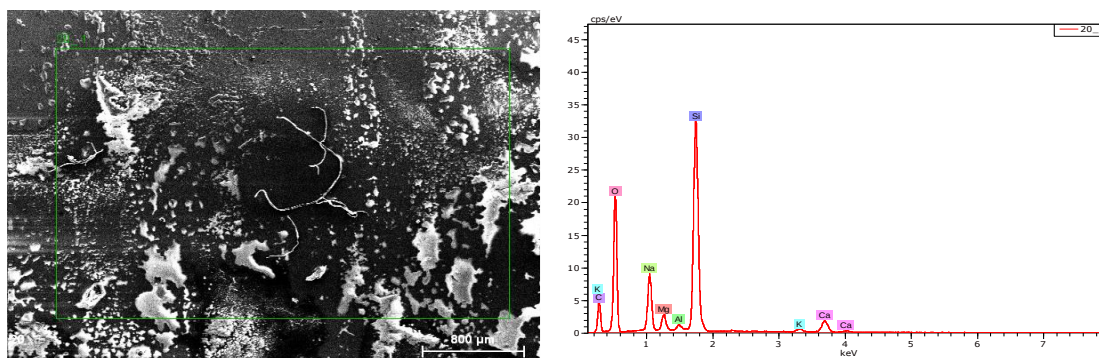


Рисунок 1. Содержание Mg в составе изученных образцов растений (*N. sativa*) методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии.

Таким образом, в изученных образцах, отобранных из перечня лекарственных средств, рекомендованных Авиценной для лечения диабета, отмечалось высокое содержание элементов, обладающих ощелачивающими свойствами. Применяя тактику терапии «противоположное-противоположным», Абу Али ибн Сина назначал ощелачивающие, имеющие «горячий мизадж» средства при диабете для уравнивания изменённого «мизаджа».

Таблица 1– Массовое процентное содержание макро- и микроэлементов в гомогенатах лекарственных растений, наиболее часто применявшихся Авиценной

№	Наименование растений, регион, дата сбора		Na	K	Ca	Mg	Cl	Al	
1	<i>Origanum tyttanthum</i> Gontsch. Душица мелкоцветковая	Нурабад, 2017	6.48±0.43	1.59±0.08	3.65±0.07	1.58±0.07	0.12±0.01	0.75±0.01	Na >Ca >K> Mg > Al > Cl
2	<i>Mentha arvensis</i> L. Мята полевая	Рамит, 2017	3.63±0.41	1.87±0.13	2.34±0.23	1.02±0.08	0.7±0.05	0.47±0.06	Na>Ca>K>Mg>Cl>Al
3	<i>Prunus armeniaca</i> L. Абрикос обыкновенный (незрелые плоды)	Ганчи, 2017	4.22±0.22	4.08±0.49	3.10±0.01	1.34±0.08	0.03±0.01	0.62±0.04	Na > K > Ca > Mg > Al > P>Cl
4	<i>Prunus cerasifera</i> Ehrh. Алыча (незрелые плоды)	Ганчи, 2017	2.28±1.47	2.22±0.51	1.43±0.65	0.73±0.32	-	0.29±0.16	Na > K > Ca > Mg > Al >P
5	<i>Berberis nummularia</i> Bunge. Барбарис чёрный	Кондара, 2016	0.18±0.01	2.20±0.01	0.22±0.12	0.14±0.01	-	0.01	K>Ca>Na>Mg>Al
6	<i>Rhus coriaria</i> L. Сумах дубильный (плоды)	Рамит, 2016	0.57±0.14	1.82±0.1	0.95±0.22	0.39±0.09	0.36±0.23	0.18±0.02	K>Ca >Na>Mg >Cl>P>Al

7	<i>Rosa canina</i> L. Шиповник (плоды)	Варзоб, 2016	7.91±0.04	1.65±0.15	7.91±0.04	1.97±0.01	-	0.64±0.01	Na>Ca>Mg>K>Al
8	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. Солодка голая	Шахритуз, 2016	3.68±0.24	0.98±0.01	3.08±0.06	1.29±0.09	-	0.45±0.04	Na>Ca>Mg>K>Al
9	<i>Coriandrum sativum</i> L. Кориандр посевной	Файзабад, 2016	6.36±0.62	1.09±0.11	3.18±0.26	1.52±0.12	-	0.5±0.05	Na>Ca>Mg>K>Al
10	<i>Plantago lanceolata</i> L. Подорожник	Рамит, 2016	2.24±0.67	2.36±0.80	2.39±0.29	0.95±0.26	2.15±0.46	0.35±0.04	Ca > K> Na > Mg >Cl > Al
11	<i>Nigella sativa</i> L. Чернушка посевная (семена)	Зафарабад, 2016	8.86±0.21	1.05±0.07	4.32±0.04	2.11±0.01	-	0.67±0.02	Na>Ca>Mg >K>Al
12	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill. Фенхель (надземная часть)	Варзоб, 2016	6.96±0.33	1.43±0.02	3.68±0.11	1.75±0.05	0.53±0.04	0.55±0.02	Na >Ca >Mg >K>Al
13	<i>Helichrysum thianschanicum</i> Regel. Бессмертник (цветки)	Варзоб, 2016	-	2.66±0.02	0.25±0.01	0.14±0.01	-	-	K > Ca > Mg >P
14	<i>Citrus limon</i> (<i>Citrus Meyer</i>) Лимон (сок плодов)	Душанбе, 2017	-	2.72±0.13	0.32±0.04	0.14±0.01	--	--	K >Ca > Mg >P

Диабетогенные факторы риска

В процессе изучения «Канона врачебной науки» и других трактатов, написанных Авиценной на арабском и родном таджикском языках, мы не выявлено конкретного перечня диабетогенных факторов риска. Нами подтверждено, что определение потенциально диабетогенных факторов риска Авиценна проводил по наличию «холодной» натуры, изменяющей «мизадж» человека в «холодную» - диабетогенную сторону и способствующей загрязнению «vujuda». Все продукты, поступающие в организм извне, имеющие кислотный характер и способствующие изменению натуры организма человека из нормального нейтрального состояния в кислотное, отнесены к потенциально диабетогенным. Для подтверждения гипотезы Авиценны о диабетогенном влиянии кислотных продуктов по принципу «подобное подобным» нами были изучены особенности влияния сока лимона, обладающего кислотными свойствами. Эксперименты проведены на 25 кроликах обоих полов со средней массой 1.8-2.0 кг.

В качестве диабетогена – кислотного продукта, использовали свежавыжатый натуральный лимонный сок (ЛС) *Citrus limon* (Citrus×Meyeri Yu.Tanaka), который вводили ежедневно внутривентрикулярно (в/ж) в течение 14 дней по 2 и 5 мл/кг массы тела. Все экспериментальные протоколы были выполнены в соответствии с Европейской конвенцией об охране позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [Совет Европы, 1986, ETS №123].

Исследование pH крови и других изученных биохимических показателей по окончании эксперимента выявили развитие состояния инсулинорезистентности у опытных животных (табл.2). Следует отметить, что при введении ЛС в количестве 5 мл/кг проявления метаболического ацидоза как в крови, так и в моче имели более выраженный характер по сравнению с дозировкой 2 мл/кг массы тела. По окончании 2-х-недельного введения ЛС уровни глюкозы и HbA1c в крови увеличились по сравнению с контрольными показателями. Данные изменения свидетельствуют о развитии состояния инсулинорезистентности у опытных групп животных, получавших ЛС.

Результаты, представленные на рисунке 2, указывают на диабетогенное действие регулярного употребления ЛС в течение 2-х недель и на развитие нарушения абсорбции глюкозы в крови опытных животных, получавших кислотный продукт питания (патент № TJ 1018 «Способ моделирования инсулинорезистентности на белых крысах»).

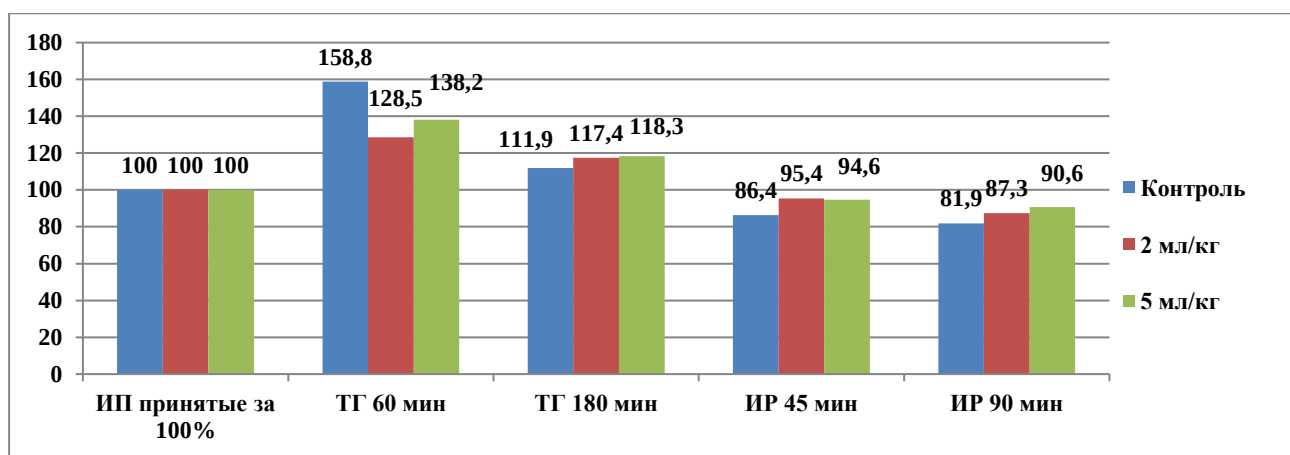


Рис.2 Уровень гликемии (в ммоль/л) при пероральном введении глюкозы (ТГ) и показатели инсулинорезистентности в % (ИР)

Таблица 2 – Изменения биохимических показателей крови у экспериментальных кроликов

Показатели через 14 дней введения ЛС	Контроль	2 мл/кг	5 мл/кг
рН крови	7.46 ± 0.02 100%	7.40 ± 0.03 - 0.8%	7.0 ± 0.04 -6.2%
рН мочи	7.3 ± 0.02 100%	6.8 ± 0.04 -6.8%	6.06 ± 0.04 -16.9%
Гликемия ммоль/л	4.85 ± 0.03 100%	7.52 ± 0.03 +55.0%	7.67 ± 0.02 +58.1%
НbA1c %	4.30 ± 0.05 100%	6.50 ± 0.04 +51.1%	7.41 ± 0.03 +72.3%
АЛТ ммоль/л	131.0 ± 0.5 100%	178.5 ± 0.5 +36.2% (p<0.002)	223.5 ± 0.7 +70.6% (p<0.001)
АСТ ммоль/л	62.1 ± 0.6 100%	82.7 ± 0.4 +33.1% (p<0.01)	113.5 ± 0.4 +82.7% (p<0.001)
Общий белок г/л	47.7 ± 0.2 100%	44.7 ± 0.9 -6,3% (p<0.1)	37.7 ± 0.6 -21.0% (p<0.05)
Альбумин г/л	31.3 ± 0.2 100%	30.6 ± 0.5 -2.2% (p<0.1)	35.8 ± 0.2 -14.4% (p<0.05)
Холестерин ммоль/л	1.24 ± 0.7 100%	1.44 ± 0.8 +16.1% (p<0.01)	1.54 ± 0.5 +24.1% (p<0.05)
Триглицериды ммоль/л	101.2 ± 5.7 100%	126.2 ± 3.4 +24.7% (p<0.05)	137.2 ± 7.8 +35.6% (p<0.01)
ЛПНП ммоль/л	220 ± 6.8 100%	252 ± 5.9 +14.5% (p<0.01)	278 ± 4.7 +26.4% (p<0.05)
ЛПВП ммоль/л	9.76 ± 0.5 100%	9.52 ± 0.8 - 2.45% (p<0.1)	7.9 ± 0.7 - 19.0% (p<0.05)

Таким образом, в данном экспериментальном исследовании мы представили лабораторные результаты влияния кислого пищевого продукта на индукцию инсулинорезистентности на животных и подтвердили гипотезу Авиценны.

Актуальность тактики терапии диабета по принципу «противоположное-противоположным»

Экспериментальное изучение *Helichrysum thianschanicum* Regel. Для подтверждения эффективности тактики терапии по принципу «противоположное-противоположным» и общепармакологического механизма гипогликемического влияния ошелачивающих («согревающих») агентов, предложенных Авиценной для лечения диабета, среди изученных нами 84 средств природного происхождения, мы выбрали два лекарственных растения, широко произрастающих в Таджикистане и используемых в народной медицине – *Helichrysum thianschanicum* Regel. и *Nigella sativa* L.

Экспериментальное изучение *Helichrysum thianschanicum* Regel. было проведено при введении настоя 1:10 растения группам животных с инсулинорезистентностью (экспериментально вызванной ЛС на 30 кроликах) и диабетом (экспериментально вызванным аллоксангидратом у 36 белых беспородных крыс). Были изучены 3 группы экспериментальных кроликов обоих полов средней массой 1.8–2.0 кг: контрольные – интактные (n=10) и опытные 2 и 3 группы по n=10 в каждой, с моделированием экспериментальной инсулинорезистентности введением свежесжатого ЛС в/ж по 2 мл/кг массы тела на протяжении 14 дней ежедневно, однократно. Третьей группе животных ежедневно параллельно с ЛС вводили в/ж настой бессмертника (1:10) по 2 мл на 1 кг массы тела (табл. 3).

Полученные результаты показали, что применение кислого продукта (2 группа) привело к развитию состояния инсулинорезистентности, а одновременное введение ошелачивающего средства - настоя бессмертника, способствовало нейтрализации диабетогенного влияния ЛС в 3 группе экспериментальных животных. Данные, полученные после введения настоя цветков и листьев *Helichrysum thianschanicum* Regel. животным с экспериментальным диабетом показали значительный антидиабетический и метаболизм-корректирующий эффекты, улучшая функции почек и печени, с достаточно выраженным антиатерогенным действием (табл. 4).

В исследованиях *in vitro* изучалась антимикробная активность *Helichrysum thianschanicum* Regel. в отношении 3-х стандартных лабораторных штаммов

микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 (SA), *Candida albicans* ATCC 10231 (CA) и *Escherichia coli* ATCC 11229 (EC). Достоверная антимикробная активность *Helichrysum thianschanicum* Regel. была выявлена в отношении стандартного лабораторного штамма SA, представленная в табл. 5.

Исследования содержания некоторых наиболее важных макро- и микроэлементов в составе водного извлечения из сухого экстракта *Helichrysum thianschanicum* Regel. выявили наиболее высокое содержание элементов калия на единицу объема исследуемого экстракта, которое превышало содержание элементов кальция, второго по процентному содержанию элемента в составе изученного экстракта цветков растения, более чем в 5 раз. Следует отметить также достаточно высокое процентное содержание солей магния в единице объема экстракта. Наличие в исследуемом экстракте значительного содержания ошелачивающих элементов является показанием к применению данного вида растения для коррекции состояния ацидоза при диабете и других НИЗ, сопровождающихся изменениями КОС в сторону ацидоза и соответствующими метаболическими нарушениями.

Экспериментальное изучение свойств надземной части Nigella sativa L. Для изучения гипогликемических свойств надземной части *Nigella sativa* L. (NSL) были проведены эксперименты на 48 белых беспородных лабораторных крысах-самцах со средней массой тела 150-220 граммов (4 группы по 12 крыс в каждой). 2,3 и 4 группам опытных животных с экспериментальным диабетом вводили в/ж по 0.2 мл/кг массы тела в течение 14 дней дистиллированной воды, настоя (1:10) и отвара (1:10) соответственно. У опытных животных возникали значимые нарушения со стороны обмена углеводов, жиров, белков, минералов, а также признаки дисфункций со стороны поджелудочной железы, печени, почек, сосудистой и иммунной систем, характерных изменениям при СД, которые в результате введения животным 3-й и 4-й групп настоя и отвара NSL соответственно, показали стойкую тенденцию к нормализации, подтверждая нефро-, панкрео- и гепатопротекторные эффекты изучаемого фитосредства (табл. 6).

Изучение содержания минералов в составе водного экстракта NSL выявили высокое содержание элементов калия – 4.64% на единицу объема исследуемого экстракта, значительно преобладающего над другими минералами в исследуемом препарате.

Таблица 3 – Сравнительный анализ лабораторных показателей у животных: интактных, с экспериментальным предиабетом, и при параллельном введении настоя (1:10) бессмертника на протяжении 14 дней

№	Показатель	Контроль Интактные животные (1)	Животные с экспериментальным предиабетом (2)		Животные с экспериментальным предиабетом + настой бессмертника (3)		P _{2vs1}	P _{3vs1}	P _{3vs2}
			Абсолютное значение	Δ%	Абсолютное значение	Δ%			
1	рН крови	7.3±0.01	7.0±0.04	-4.1%	7.36±0.04	+5.2%	p<0.05	н/д	н/д
2	Глюкоза (ммоль/л)	5.0±0.2	6.8±0.1	+36%	5.2±0.2	-19.1%	p<0.01	н/д	p<0.05
3	НbA1c (%)	4.3±0.1	7.5±0.2	+74.4%	6.3±0.3	-2.7%	p<0.01	p<0.01	p<0.05
4	Общий белок (г/л)	64.2±1.2	54.1±1.5	-16%	60.7±2.3	+12%	p<0.05	н/д	p<0.05
5	Альбумин (г/л)	36.8±1.3	34.1±1.5	-7.3%	36.5±2.1	+7.04%	н/д	н/д	н/д
6	АЛТ (ммоль/л)	150.3±3.2	249.6±2.5	+66.06%	183.2±3.03	-27%	p<0.01	p<0.01	p<0.05
7	АСТ (ммоль/л)	127.1±4.5	223.1±5.4	+76%	189.2±4.12	-15.2%	p<0.001	p<0.001	p<0.01
8	Холестерин (ммоль/л)	3.3±0.1	3.9±0.4	+18.2%	2.5±0.2	-35.9%	н/д	p<0.05	p<0.05
9	Щелочная фосфатаза (Е/л)	81.7±7.3	164±3.5	+100.7%	98±2.45	-34%	p<0.01	н/д	p<0.05
10	Общий билирубин (мкмоль/л)	13.12±1.2	21.33±1.5	+62.6%	16.6±1.3	- 22.2%	p<0.05	н/д	p<0.05
11	Связанный билирубин (мкмоль/л)	8.03±0.6	16.6±1.5	+106.7%	13.5±0.9	-18.7%	p<0.05	p<0.05	н/д
12	Калий (K ⁺) (ммоль/л)	5.3±0.05	3.8±0.1	-28.3%	5.5±0.7	+44.7%	p<0.05	н/д	p<0.05
13	α-Амилаза (Е/л)	5.5±0.5	11.8±0.7	+114.5%	9.8±0.8	-17%	p<0.05	н/д	н/д
14	Мочевина (ммоль/л)	4.33±0.4	6.31±0.5	45.7%	3.92±0.4	-37.8%	p<0.05	н/д	p<0.05
15	Мочевая кислота (ммоль/л)	200±10.0	332±8.0	+66%	206±14.0	- 37.9%	p<0.05	н/д	p<0.05
16	Креатинин (ммоль/л)	30.9±1.8	37.3±1.5	20.7%	35.7±2.4	- 4.3%	н/д	н/д	н/д

Таблица 4 – Сравнительный анализ лабораторных показателей у животных с экспериментальным аллоксангидратовым диабетом и при параллельном введении настоя (1:10) бессмертника на протяжении 14 дней

№	Показатель	Контроль Интактные животные (по 0.5 мл/100 г дистил.вода (1)	Животные с экспериментальным аллоксангидратовым диабетом (по 0.5 мл/100 г дистил.вода) (2)		Животные с экспериментальным аллоксангидратовым диабетом (настой 1:10 бессмертника по 0.5 мл/100 г) (3)		P _{2vs1}	P _{3vs1}	P _{3vs2}
			Абсолютное значение	Δ%	Абсолютное значение	Δ%			
1	рН крови	7.19±0.1	6.79±0.3	-5.7%	7.47±0.2	+10.0%	н/д	н/д	н/д
2	Глюкоза (ммоль/л)	6.3±0.4	19.3±1.5	+206.3%	11.2±0.7	-41.9%	p<0.01	p<0.05	p<0.05
3	НbA1c (%)	6.8±0.1	8.1±0.2	+19.1%	5.5±0.2	-32.1%	p<0.05	p<0.05	p<0.05
4	Общий белок (г/л)	72.06±1.9	65.92±1.7	-8.5%	71.6±2.4	+8.6%	p<0.05	н/д	н/д
5	Альбумин (г/л)	64.3±2.3	59.1±2.04	-8.2%	60.9±1.4	+3.08%	н/д	н/д	н/д
6	Амилаза (Е/л)	458.4±9.3	537.4±8.9	+17.23%	430.3±10.4	-19.9%	p<0.05	p<0.05	н/д
7	Кальций (ммоль/л)	3.03±0.1	2.89±0.2	-4.62%	3.13±0.1	+8.3%	н/д	н/д	н/д
8	Холестерин (ммоль/л)	3.19±0.04	3.78±0.09	+18.5%	3.46±0.6	-8.5%	н/д	н/д	н/д
9	Триглицериды (ммоль/л)	0.51±0.05	1.18±0.07	+131.4%	0.74±0.07	-37.3%	p<0.05	p<0.05	p<0.05
10	ЛПВП (ммоль/л)	2.7±0.2	1.8±0.2	-33.3%	8.9±0.4	+394%	н/д	p<0.05	p<0.05
11	АЛТ (Е/л)	218.9±8.3	244.5±10.3	+11.7%	85.6±5.4	-54.9%	н/д	p<0.05	p<0.05
12	АСТ (Е/л)	93.05±7.4	165.1±8.7	+77.4%	72.1±5.1	-55.5%	p<0.05	p<0.05	p<0.05
13	Общий билирубин (мкмоль/л)	14.5±1.07	20.8±2.0	+43.2%	10.4±2.01	-37.7%	p<0.05	н/д	p<0.05
14	Мочевина (ммоль/л)	7.79±0.1	9.36±0.12	+20.2%	5.66±0.14	-39.4%	н/д	н/д	p<0.05
15	Мочевая кислота ммоль/л	200±11.1	332±8.18	+66%	229±12.4	-31.1%	p<0.05	н/д	p<0.05
16	Креатинин (ммоль/л)	47.2±7.5	56.7±5.01	+19.9%	53.4±4.1	-5.7%	н/д	н/д	н/д

Таблица 5 – Показатели антимикробной активности экстрактов *Helichrysum thianschanicum* Regel.

Стандартные и исследуемые образцы	Диаметр зоны ингибирования СА (мм)	Диаметр зоны ингибирования ЕС (мм)	Диаметр зоны ингибирования SA (мм)
Натриевая соль ампициллина (стандарт для ЕС и SA)		22	27
Амфотерицин В (для СА)	16		
Водный экстракт бессмертника	≤ 7	≤ 7	21
70%-водно-спиртовой экстракт бессмертника	≤ 7	≤ 7	15

Примечания: При диаметре зоны ингибирования ≤ 7 мм регистрируется отсутствие эффекта. Стандартные микроорганизмы: SA – Staphylococcus aureus ATCC6538; CA – Candida albicans ATCC10231; EC – Escherichia coli ATCC11229

Отмечено также высокое процентное содержание кальция (2.9%), а также других изученных элементов с ощелачивающими свойствами, обеспечивающих, по нашему мнению, непрямой антидиабетический эффект *Nigella sativa* L., приводя к нормализации метаболизма в организме крыс с диабетом через «уравновешение холодного мизаджа» по Авиценне.

Экспериментальное фармакологическое исследование экстрактов корней Geranium collinum Steph. Сравнительный анализ гипогликемического действия экстрактов *Helichrysum thianschanicum* Regel., *Nigella sativa* L., экстракта корней *Geranium collinum* Steph., продемонстрировал более выраженный эффект последнего (табл.7). В экспериментальном исследовании у животных с аллоксановым диабетом экстракт *Geranium collinum* Steph. продемонстрировал максимальный эффект по снижению уровня глюкозы -69.63 Δ% (настой бессмертника 19.1 Δ%; настой чернушки-55.6 Δ%; отвар чернушки -60.2 Δ%) и уровня гликолизированного гемоглобина -21.33 Δ% (настой бессмертника -2.7 Δ%; настой чернушки-10.35 Δ%; отвар чернушки -15.9%). В связи с чем, в качестве основного компонента сбора «Новобет» выбрана *Geranium collinum*.

Для исследования корней *Geranium collinum*, выявления оптимального растворителя и времени экстракции были оценены различные комбинации этанола с водой (30, 50, 70 и 100%) и чистая вода, чтобы определить соответствующую эффективность экстракции (рис. 3). В результате 2-часового извлечения среди всех испытуемых растворителей

наивысший выход экстракции обеспечивался 70% этанолом (31г/100г). Значения экстракции для водного экстракта, 30, 50 и 100% этанола составляли 19г, 21г, 28г и 22г на 100 г соответственно.

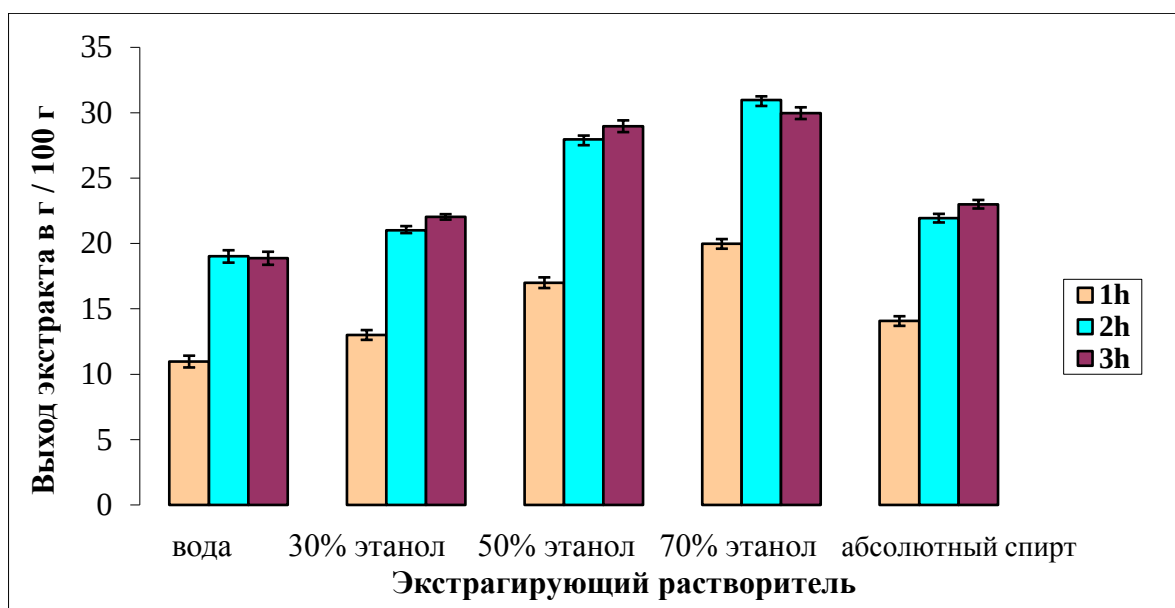


Рисунок 3. Графическое сравнение выходов различных извлечений из экстрактов корней и корневищ *G. collinum*.

Были выполнены исследования химических компонентов, выделены отдельные фенольные соединения и стероидные гликозиды *G. collinum*, проведено изучение нескольких корневых экстрактов на возможность ингибирования ферментов α -гликозидазы и РТР-1В. Кроме того, определялись антиоксидантная активность, общее содержание полифенольных соединений и флавоноидов в экстрактах корней и корневищ *G. collinum* (табл.8).

Более низкое значение IC_{50} , чем стандартное значение у витамина С, подразумевает значительную антиоксидантную активность тестируемых образцов. Среди изученных экстрактов, 30% спиртовой экстракт был сравнительно активным, при этом значение IC_{50} составило 10.89 ± 0.63 мкг/мл. Значения IC_{50} 50 и 70% этанола, абсолютного спирта и водных экстрактов (мкг/мл) были: 11.21 ± 0.49 , 12.69 ± 0.6 , 11.23 ± 0.7 и 15.17 ± 0.84 соответственно. Среди различных разведений, 50% водно-спиртовой экстракт растения обладал наиболее мощной ингибирующей активностью, причём значения средней концентрации ингибирования (IC_{50}) составляли 0.10 мкг/мл и 0.07 мкг/мл для ферментов РТР-1В и α -глюкозидазы соответственно.

Таблица 6 – Сравнительный анализ лабораторных показателей у животных: на протяжении 14 дней

№	Показатель	Контроль Интактные (1)	Животные с эксперим. диабетом (2)		Животные с эксперим диабетом + настой NSL 0.2 мл/100 г (3)		Животные с эксперим. диабетом+ отвар NSL 0.2 мл/100 г (4)		P _{3vs2}	P _{4vs2}	P _{3vs4}
			Абс. знач-е	Δ%	Абс. знач-е	Δ%	Абс. знач-е	Δ%			
1	рН крови	7.19±0.1	6.79±0.1	-5.7%	7.11±0.1	4.72%	7.24±0.2	+6.69%	н/д	p<0.05	н/д
2	Глюкоза (ммоль/л)	6.32±0.1	19.26±0.11	+204.7%	8.54±0.14	-55.6%	7.67±0.11	-60.2%	p<0.01	p<0.01	p<0.05
3	HbA1c (%)	6.81±0.15	8.1±0.21	+18.9%	7.26±0.14	-10.35%	6.82±0.15	-15.9%	н/д	p<0.05	н/д
4	Общий белок (г/л)	72.06±1.05	65.92±1.01	-8.52%	74.6±2.04	+13.2%	73.5±1.05	+7.04%	p<0.05	p<0.05	н/д
5	Альбумин (г/л)	64.32±1.5	59.06±1.2	-8.2%	60.82±2.3	+2.98%	65.74±2.1	+11.3%	н/д	н/д	н/д
6	АЛТ (ммоль/л)	93.05±3.4	165.0±4.1	+77.4%	114.9±3.04	-30.4%	122.5±3.5	-25.7%	p<0.01	p<0.01	н/д
7	АСТ (ммоль/л)	218.95±2.5	244.5±3.01	+11.7%	236.8±4.5	-3.15%	241.9±4.6	-1.04%	н/д	н/д	н/д
8	Кальций (ммоль/л)	3.03±0.1	2.89±0.4	-4.62%	3.09±0.2	+6.74%	3.08±0.3	+6.57%	н/д	н/д	н/д
9	α-Амилаза (Е/л)	458.38±5.5	537.3±6.7	+17.23%	372.2±3.5	-30.7%	414.7±4.5	-22.8%	p<0.01	p<0.05	p<0.05
10	Холестерин (ммоль/л)	3.19±0.1	3.78±0.1	+18.5%	2.61±0.11	-30.9%	2.06±0.12	-45.5%	p<0.05	p<0.05	p<0.05
11	Триглицериды (ммоль/л)	0.51±0.06	1.18±0.1	+131.4%	0.47±0.1	-60.1%	0.44±0.04	-62.99%	p<0.05	p<0.05	н/д
12	ЛПВП (ммоль/л)	2.7±0.1	1.8±0.1	-33.33%	3.28±0.2	+82.2%	4.3±0.08	+138.9%	p<0.05	p<0.05	н/д
13	Общ.билирубин (мкмоль/л)	14.50±0.7	20.77±0.8	+43.2%	11.45±0.6	-44.9%	13.45±0.9	-35.2%	p<0.05	p<0.05	н/д
14	Связ. билирубин (мкмоль/л)	9.82±0.7	14.64±1.04	+49.13%	7.48±1.04	-48.9%	8.66±0.04	-40.9%	p<0.05	p<0.05	н/д
15	Мочевина ммоль/л	7.79±0.2	9.36±1.04	+20.2%	5.74±0.1	-38.6%	7.82±0.3	-16.4%	p<0.05	н/д	н/д
16	Креатинин мкмоль/л	47.2±2.01	56.66±3.1	+20.04%	52.18±2.1	-7.9%	51.04±3.2	-9.92%	н/д	н/д	н/д

Таблица 7 – Сравнительный анализ лабораторных показателей у животных: интактных, с экспериментальным предиабетом, и при параллельном введении водно-спиртового эстракта *G.collinum* (50%) на протяжении 14 дней

№	Показатель	Контроль Интактные животные (1)	Животные с экспериментальным предиабетом (2)		Животные с экспер.предиабетом + 50%- эстракта герани (3)		P _{2vs1}	P _{3vs1}	P _{3vs2}
			Абсолют. Значение	Δ%	Абсолютное значение	Δ%			
1	pH крови	7.3±0.01	7.1±0.02	-4.1%	7.4±0.03	+1.4%	p<0.05	н/д	н/д
2	Глюкоза (ммоль/л)	5.2±0.2	6.9±0.1	+32.7%	5.2±0.3	-24.63%	p<0.01	н/д	p<0.05
3	HbA1c (%)	4.3±0.1	7.5±0.2	+74.4%	5.9±0.3	21.33%	p<0.01	p<0.01	p<0.05
4	Общий белок (г/л)	64.2±1.2	54.1±1.5	-16%	62.3±4.3	+14.6%	p<0.05	н/д	p<0.05
5	Альбумин (г/л)	36.8±1.3	34.1±1.5	-7.3%	36.4±1.9	+6.7%	н/д	н/д	н/д
6	АЛТ (ммоль/л)	150.3±3.2	249.6±2.5	+66.06%	172.2±6.4	-31%	p<0.01	p<0.01	p<0.05
7	АСТ (ммоль/л)	127.1±4.5	223.1±5.4	+76%	167.2±6.17	-25.05%	p<0.001	p<0.001	p<0.01
8	Холестерин (ммоль/л)	3.3±0.1	3.9±0.4	+18.2%	2.9±0.31	-25.64%	н/д	p<0.05	p<0.05
9	Щелочная фосфатаза (Е/л)	81.7±7.3	164±3.5	+100.7%	95.7±2.45	-41.6%	p<0.01	н/д	p<0.01
10	Общий билирубин (мкмоль/л)	13.12±1.2	21.33±1.5	+62.6%	14.3±2.3	- 32.9%	p<0.05	н/д	p<0.01
11	Связанный билирубин (мкмоль/л)	8.03±0.6	16.6±1.5	+106.7%	11.3±1.9	-31.92%	p<0.05	p<0.05	н/д
12	Калий (K ⁺) (ммоль/л)	5.3±0.05	3.8±0.1	-28.3%	5.3±0.9	+39.4%	p<0.05	н/д	p<0.05
13	α-Амилаза (Е/л)	5.5±0.5	11.8±0.7	+114.5%	10.1±1.8	-14.4%	p<0.05	н/д	н/д
14	Мочевина (ммоль/л)	4.33±0.4	6.31±0.5	45.7%	4.1±0.5	-35.02%	p<0.05	н/д	p<0.05
15	Мочевая кислота (ммоль/л)	200±10.0	332±8.0	+66%	203±11.8	- 38.8%	p<0.05	н/д	p<0.05
16	Креатинин (ммоль/л)	30.9±1.8	37.3±1.5	20.7%	33.4±3.4	- 7.3%	н/д	н/д	н/д

По результатам фитохимических исследований 50% водно-спиртового экстракта *G.collinum* были выделены и идентифицированы десять чистых соединений (рис.4).

Три изолированных чистых соединения (катехин, эпикатехин и корилагин) проявляли наиболее сильную ингибирующую активность против РТР-1В, при значениях IC_{50} ниже 0.9 мкг/мл, более эффективно, чем положительный контроль (эталон равный 1.46 мкг/мл). Флавоноиды и фенольные гликозиды растительных экстрактов *G.collinum* продемонстрировали выраженную эффективность в качестве ингибиторов РТР-1В и α -глюкозидазы. Это создаёт перспективы для дальнейшей разработки лекарственных средств природного происхождения, для применения при СД 2 типа [Zhang J. et al., 2010; Li Q. et al., 2015; Qureshi M.N. et al., 2016]. Кроме суммарных экстрактов, мы оценивали ингибирующее действие *in vitro* десяти чистых изолированных соединений из *G. collinum* на ферменты РТР-1В и α -глюкозидазу (табл.9).

Таблица 8 – Определение антиоксидантной и антидиабетической активностей водного и водно-спиртовых суммарных экстрактов

Виды экстрактов	Антиоксидантная активность IC_{50} значения (мкг/мл)	Ингибирование РТР-1В IC_{50} значения (мкг/мл)	Ингибирование α -глюкозидазы IC_{50} значения (мкг/мл)
H ₂ O	15.17 ± 0.84	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.01
30% этанол	10.89 ± 0.63	0.29 ± 0.02	0.10 ± 0.01
50% этанол	11.21 ± 0.49	0.10 ± 0.01	0.07 ± 0.01
70% этанол	12.69 ± 0.6	0.16 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Абсолютный спирт	11.23 ± 0.7	0.43 ± 0.02	1.98 ± 0.21
Контроль (витамин С)	5.34 ± 0.42		
Контроль (РТР-1В ингибитор*)		1.46 ± 0.40	
Контроль (α -глюкозидазы ингибитор**)			2.19 ± 0.04

Примечание: *–РТР-1В-ингибирующий фермент (3-(3,5-дибромо-4-гидроксibenзоил)-2-этилбензофуран-6-сульфоновая кислота-(4-(тиазол-2-улсульфамильный)-фенил)-амид);
 ** – фермент ингибирующий α -глюкозидазу (акарбоза).

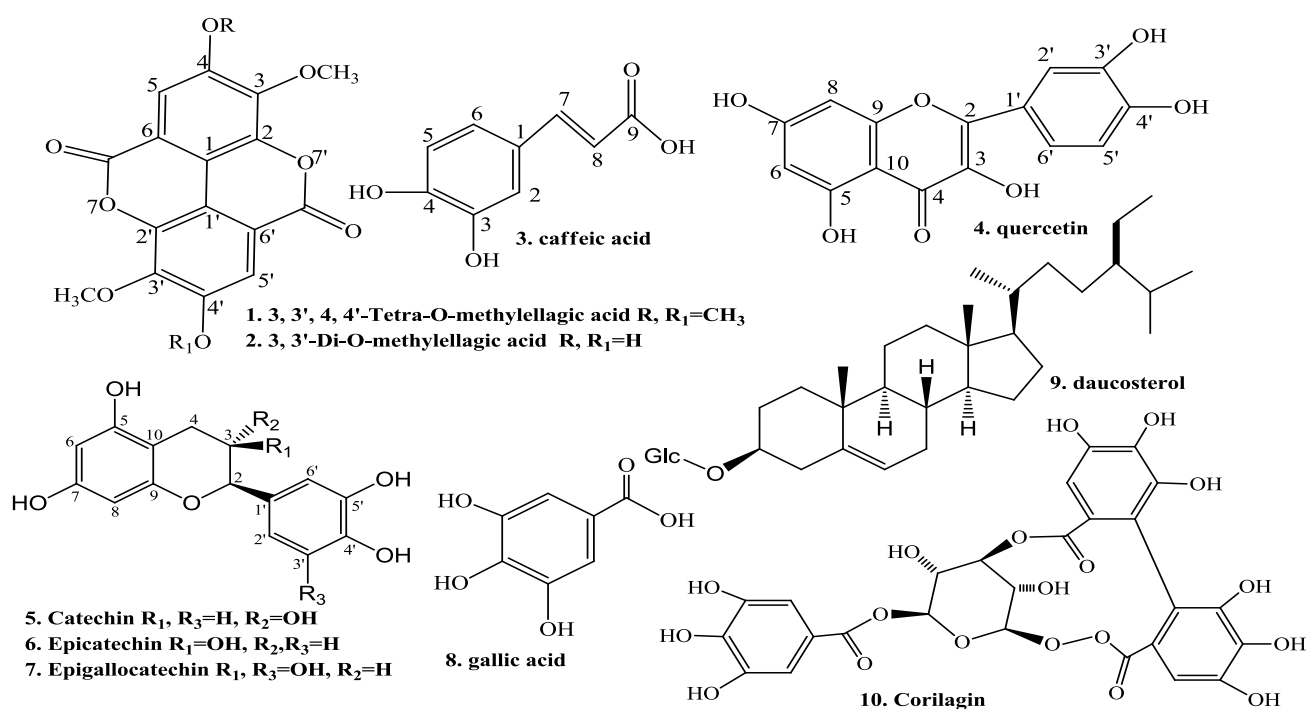


Рисунок 4. Химические структуры основных соединений, выделенных из 50% спиртового экстракта *Geranium collinum*.

Таблица 9 – Антидиабетическая активность основных изолированных соединений из *Geranium collinum* in vitro (по показателям IC_{50})

Наименования компонентов	Антидиабетическая активность	
	(РТР-1В) значения IC_{50} (мкг/мл)	(α -глюкозидаза) значения IC_{50} (мкг/мл)
3,3',4,4'-Tetra-O-метилэллагиновая кислота	21.64 ± 1.19	Нет эффекта
3,3'-Di-O-метилэллагиновая кислота	6.26 ± 0.22	Нет эффекта
Коффеиновая кислота	35.81 ± 1.62	22.49 ± 1.12
Кверцетин	2.19 ± 0.2	4.15 ± 0.19
Катехин	0.62 ± 0.06	4.65 ± 0.20
Эпикатехин	0.23 ± 0.04	2.62 ± 0.12
Эпигаллокатехин	Нет эффекта	42.44 ± 2.15
Галловая кислота	Нет эффекта	68.30 ± 3.02
Даукостерол	Нет эффекта	30.19 ± 1.56
Корилагин	0.87 ± 0.09	5.59 ± 0.37
РТР-1В* и акарбоза**	$1.46 \pm 0.40^*$	$2.19 \pm 0.11^{**}$

Примечание: * – РТР-1В-ингибирующий фермент (3-(3,5-дибромо-4-гидроксибензоил)-2-этилбензофуран-6-сульфоновая кислота-(4-(тиазол-2-улсульфамильный)-фенил)-амид);

** – фермент ингибирующий α -гликозидазу (акарбоза).

Молекулярная стыковка. Для прогнозирования возможности воздействия изучаемых соединений на молекулярные рецепторы инсулина, было проведено исследование молекулярной стыковки на двух различных белковых структурах человеческого РТР-1В (3CWE и 4Y14) и двух различных белковых структурах человеческой α -глюкозидазы (3LPP и 3TOP). Молекулярные энергии повторного ранга (E_{dock}) и нормализованные стыковочные множества (DS_{norm}) лигандов *G.collinum* с белковыми мишенями приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Энергетическая молекулярная стыковка (повторная оценка рангов, E_{dock}) и нормированные оценки стыковки (DS_{norm}), кДж/моль, для фитохимического состава *G.collinum* с человеческими РТР-1В и α -глюкозидазой

Лиганд	Протеин-тирозин-фосфатаза 1В				α -глюкозидаза			
	3CWE ^а		4Y14 ^б		3LPP ^в		3TOP ^г	
	E_{dock}	DS_{norm}	E_{dock}	DS_{norm}	E_{dock}	DS_{norm}	E_{dock}	DS_{norm}
Сокристаллизованный лиганд	-87.4	-79.5	-125.0	-116.1	-116.0	-110.9	-130.3	-108.3
3,3',4,4'-Тетра-О-метилэллагиновая кислота	-91.4	-92.5	-98.6	-99.8	-55.9	-56.6	-83.2	-84.2
3,3'-Di-О-метилэллагиновая кислота	-82.4	-85.7	-93.3	-97.0	-59.8	-62.2	-72.2	-75.1
Кофеиновая кислота	-78.2	-99.6	-81.5	-103.8	-69.6	-88.6	-65.9	-83.9
Катехин	-86.9	-94.3	-86.9	-94.4	-77.5	-84.1	-83.5	-90.7
Корилагин	-111.9	-93.7	-101.2	-84.4	-107.5	-89.9	-120.4	-100.8
Даукостерол	-12.6	-10.8	-86.4	-74.6	-103.4	-89.3	-129.3	-111.6
Эллагиновая кислота	-82.3	-88.1	-92.3	-98.9	-51.7	-55.4	-72.5	-77.6
Эпикатехин	-87.4	-94.9	-95.7	-103.9	-76.5	-83.1	-82.3	-89.4
Эпигаллокатехин	-91.9	-98.0	-98.5	-105.1	-79.8	-85.1	-89.2	-95.1
Галловая кислота	-75.5	-97.9	-78.8	-102.3	-70.4	-91.3	-67.0	-86.9
Кверцетин	-93.4	-100.0	-92.6	-99.2	-84.7	-90.7	-87.7	-93.9

Примечания: а) Сокристаллизованный лиганд для PDB* 3CWE представляет собой [2-бром-4-[(2R) -3-оксо-2,3- дифенилпропил] фенил (дифлуоро) метил] фосфоновой кислоты ($MW^{**}=494,243$); б) сокристаллизованный лиганд для PDB 4Y14 представляет собой 3-бром-4-[дифтор- (фосфоно) метил] -N-метил-Na- (метилсульфонил) -L-фенилаланинамид ($MW=463,189$); в) Сокристаллизованный лиганд для PDB 3LPP является (1S, 2R, 3R, 4S) -1 - {(1S) -2 - [(2R, 3S, 4S) -3,4-дигидрокси-2- (гидроксиметил)-тетрагидротио -фенил-1-ил] -1-гидроксиэтил} -2,3,4,5-тетрагидроксибензилсульфат ($MW=424,442$); г) сокристаллизованный лиганд для PDB 3TOP представляет собой α -акарбозу ($MW=646,613$).

*PDB–Protein Data Bank -Банк данных о белках; **MW– Molecular Weight – Молекулярная масса

Исследования протеин-лигандных стыковок (рис.5) проводились на основе кристаллических структур двух человеческих рекомбинантных протеинтирозинфосфатаз 1B (HsPTP1B, PDB 3CWE [Han Y. et al., 2008] и PDB 4Y14) [Krishnan N. et al., 2015] и двух кристаллических структур α -глюкозидазы (человеческая сахароза-изомальтаза, HsSI, PDB 3LPP [Sim L. et al., 2010] и человеческая мальтаз-глюкоамилаза, HsMGAM, PDB 3TOP [Ren L. et al., 2011]).

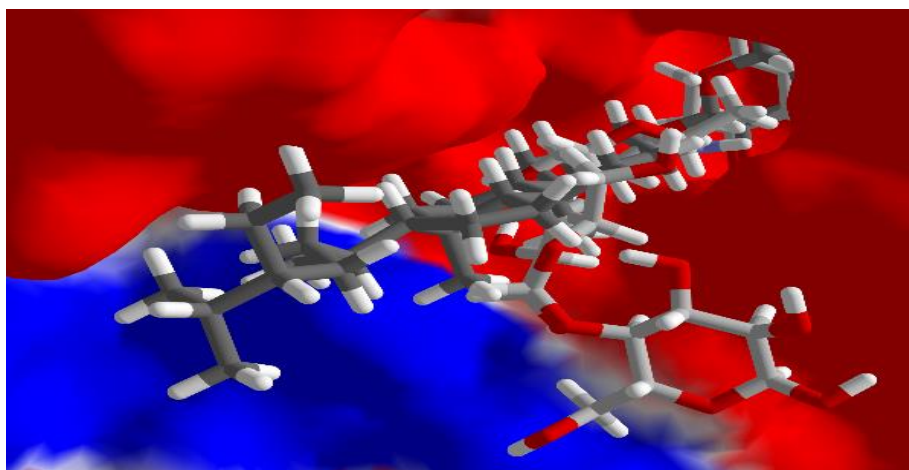


Рисунок 5. Низкоэнергетическая пристыкованная поза даукостерола (фигура темно-серой палки) с человеческой мальтазой-глюкоамилазой (PDB 3TOP), показывающая электростатическую поверхность участка связывания. Сокристаллизованный лиганд α -акарбозы показан в виде светло-серой фигуры.

Таким образом, в настоящем исследовании из корней *G. collinum* впервые были выделены и идентифицированы фенольные соединения и стероидный гликозид. Из 50% спиртового экстракта были извлечены 10 чистых биологически активных соединений. Спиртовые экстракты *G. collinum* в эксперименте ингибируют PTP-1B и α -глюкозидазу.

На основе результатов метода моделирования (молекулярной стыковки) можно сделать вывод, что полифенольные компоненты, вероятно, ответственны за ингибирование PTP-1B, тогда как гликозид стерола (даукостерол) является вероятным ингибитором α -глюкозидазы человека.

Фитохимическая и фармакологическая характеристики сбора «Новобет». Новый сбор из лекарственных растений Таджикистана, создан нами на основе изученных данных по технологическому, химическому и фармакологическому скринингу его составляющих. «Новобет» содержит в качестве активных компонентов измельченные корни и корневища *Geranium collinum* Steph. в пропорции 70%, измельченные корни и корневища *Glycyrrhiza glabra* L. – 10% и плоды *Rhus coriaria* L. – 20%.

Средство «Новобет», было изучено нами ранее в качестве гипогликемического, антиатерогенного и антиоксидантного средства *in vivo*, на животных с экспериментальным диабетом и по результатам исследований были опубликованы статьи и получен патент [Шарофова М.У. 2012, 2013, 2014; Патент № TJ 45]. Новый антидиабетический сбор «Новобет», содержащий физико-химически и фармакологически совместимые ингредиенты, также был изучен нами *in vitro* с определением гипогликемической (ингибирование РТР-1В и α -глюкозидазы), антиоксидантной (анализ с DPPH) и противомикробной активностей. Кроме того, было проведено определение отдельных минералов в составе сбора, обладающих ощелачивающими свойствами, а также состав биологически активных соединений.

Исследования *in vitro* сбора «Новобет» с использованием энзимного метода продемонстрировали высокую ингибирующую активность водного и 70% водно-спиртового экстрактов на РТР-1В, где значения полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC_{50}) составили от 1.59 мг/мл и 0.88 мг/мл соответственно. При сравнении с показателем ингибирующей активности эталонного ингибитора РТР-1В, равного 1.46 мкг/мл, можно заключить, что как водный, так и 70%-водно-спиртовый экстракты сбора «Новобет» продемонстрировали выраженную ингибирующую активность, причём этот эффект был более значителен у 70% водно-спиртового экстракта, достоверно, почти в два раза перекрыв значение эталонного показателя.

Исследование и сравнительная оценка антиоксидантной активности водного и 70% водно-спиртового экстрактов после 2-х часов экстракции были проведены с использованием анализа с DPPH–2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом, который применяется в лабораторных исследованиях для мониторинга химических реакций с участием свободных радикалов. Общий антиоксидантный анализ водного и 70% водно-спиртового экстрактов изучаемого сбора «Новобет» обладают антиоксидантной активностью, близкой к стандартному значению у витамина С.

Исследуемые экстракты сбора «Новобет» проявили выраженную антимикробную активность в отношении стандартного образца золотистого стафилококка стандартного штамма ATCC6538. Диаметры зон ингибирования составили соответственно 12.5 мм для водного и 11 мм для 70% водно-спиртового экстрактов. Однако, в отношении *Escherichia coli* стандартного штамма ATCC11229 и грибка *Candida albicans* стандартного штамма

АТСС10231 антимикробной активности исследуемых экстрактов сбора «Новобет» выявлено не было.

Определение стандартных кривых и корреляционных коэффициентов показали высокие степени корреляции между содержанием изученных макро- и микроэлементов, имеющих ярко выраженные ощелачивающие свойства и обладающих мизаджекорректирующими эффектами (табл. 11).

Таблица 11 – Определение корреляционных коэффициентов содержания изученных макро- и микроэлементов

Показатели стандартных кривых и корреляционных коэффициентов			
Элемент	Длина волны (нм)	Стандартная кривая	Корреляционные коэффициенты
K	766.491	$y = 13018.5 x + 385.243$	0.999951
Na	589.592	$y = 6503.69 x + 50.2598$	0.999901
Ca	317.933	$y = 2197.18 x + 51.6485$	0.999964
Mg	279.553	$y = 13924.0 x + 262.455$	0.999503
Zn	213.857	$y = 3416.73 x + 3.46463$	0.999888

Применение метода масс-спектрометрии LC-ESI-MS/MS, позволяющего с высокой точностью определить биологически активные вещества, в нашем исследовании, позволило охарактеризовать 25 фенольных соединения в 70% водно-спиртовом экстракте сбора «Новобет» (рис.6). Нашими исследованиями выявлено, что «Новобет» является потенциальным источником биоактивных соединений со значительным гипогликемическим действием *in vitro* и *in vivo*.

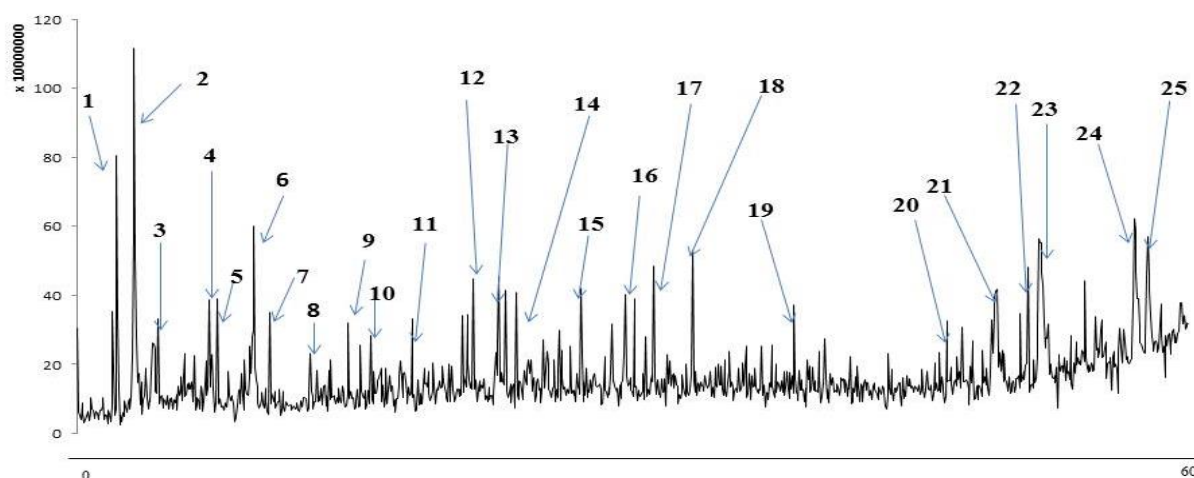


Рисунок 6. Общая ионная хроматограмма LC MS/MS 70% водно- спиртового экстракта «Новобет» (1:10).

Выводы

1. Использование для терапии диабета лечебных средств с закисляющими свойствами, способствуют усугублению состояния ацидоза, что практически сводится к «терапии» по принципу «подобное-подобным». Экспериментальное внутрижелудочное введение лимонного сока вызывало состояние инсулинорезистентности у лабораторных животных, подтверждая, что тактика терапии «подобное подобным» не может быть применена для лечения диабета, что согласуется с учением Авиценны.
2. Тактика терапии «противоположное противоположным» по Авиценне – ведущий общепармакологический канон, тесно связан с учением о «мизадже». Сущность данного подхода заключается в коррекции сниженного уровня pH организма и сводится к применению средств природного происхождения, обладающих ощелачивающими свойствами.
3. На полученных спектрограммах изученных гомогенатов 14 лекарственных растений Таджикистана, наиболее часто встречающихся в качестве компонентов в рецептах Авиценны для лечения диабета, отмечалось преобладание щелочных и щёлочноземельных элементов: Na; Ca; K; Mg.
4. Экстракт *Geranium collinum* Steph. в экспериментальном исследовании у животных с аллоксановым диабетом продемонстрировал максимальный эффект по снижению уровня глюкозы -69.63 Δ% (настой бессмертника 19.1 Δ %; настой чернушки-55.6 Δ%; отвар чернушки -60.2 Δ%) и уровня гликолизированного гемоглобина -21.33 Δ% (настой бессмертника -2.7 Δ%; настой чернушки-10.35Δ %; отвар чернушки - 15.9 Δ%).
5. Максимальной ингибирующей активностью на РТР-1В среди изученных экстрактов обладает 50% водно-спиртовой экстракт *Geranium collinum* Steph. (IC₅₀-0,10 мкг/мл). Высокую ингибирующую активность продемонстрировали три изолированных чистых соединения (катехин, эпикатехин и корилагин) IC₅₀ ниже <0.9 мкг/мл. Для 70% водно-спиртового экстракта сбора «Новобет» IC₅₀ составляет 0.88 мг/мл, что в два раза ниже активности эталонного ингибитора РТР-1В, равного 1.46 мкг/мл.
6. Максимальной ингибирующей активностью на α-глюкозидазу среди изученных экстрактов обладает 50% водно-спиртовой экстракт *Geranium collinum* Steph. (IC₅₀-

0.07мкг/мл). Высокую ингибирующую активность продемонстрировали четыре изолированных чистых соединения (эпикатехин, кверцетин, катехин и корилагин) IC_{50} ниже <5.6 мкг/мл.

7. Согласно результатам метода моделирования (молекулярная стыковка), глюкозид стерола (даукостерол) является вероятным ингибитором α -глюкозидазы человека (3LPP^B (E_{dock} —103,4; DS_{norm} -89,3); ЗТОР^I (E_{dock} —129.3; DS_{norm} -11,6). Полифенольные компоненты ответственны за ингибирование РТР-1В.
8. Не выявлено статистически значимых различий в антиоксидантной активности 30%, 50% и 70% водно-спиртового экстракта *G.collinum* (IC_{50} соответственно 10.89 ± 0.63 мкг/мл; 11.21 ± 0.49 мкг/мл; 12.69 ± 0.6 мкг/мл). Водный и 70%-водно-спиртовой экстракты сбора «Новобет» обладают статистически значимо более высокой антиоксидантной активностью ($p < 0.05$), близкой к стандартному значению витамина С (IC_{50}) соответственно 7.49 ± 0.21 мкг/мл; 6.26 ± 0.33 мкг/мл; 5.34 ± 0.27 мкг/мл.
9. Из корней *G.collinum* впервые выделены и идентифицированы фенольные соединения и стероидный гликозид. Из 50% спиртового экстракта извлечены 10 чистых биологически активных соединений. Методом масс-спектрометрии идентифицированы: 3,3',4,4'-тетра-О-метилэллагиновая кислота; 3,3'-Di-О-метилэллагиновая кислота; кофеиновая кислота; катехин; корилагин; даукостерол; эллагиновая кислота; эпикатехин; эпигаллокатехин; галловая кислота; кверцетин.
10. Исследуемые экстракты сбора «Новобет» проявили выраженную антимикробную активность в отношении стандартного образца золотистого стафилококка штамма АТСС6538 (диаметры зон ингибирования 12.5 мм для водного и 11 мм для 70% водно-спиртового экстрактов).

Практические рекомендации

1. Экстракт *Helichrysum thianschanicum* Regel. продемонстрировал выраженное гипогликемическое действие на экспериментальной модели инсулинорезистентности и аллоксанового диабета, является пищевым растением и может быть использован в качестве компонента фитосбора для пациентов с гипергликемией.
2. *Nigella sativa* L. продемонстрировала выраженное гипогликемическое действие на экспериментальной модели аллоксанового диабета, является пищевым

растением и может быть использована в качестве компонента фитосбора для пациентов с гипергликемией.

3. Сбор «Новобет» (Патент № TJ 45) представлен на регистрацию в Республике Таджикистан в качестве лекарственного средства для лечения сахарного диабета.
4. В состав фитосборов для пациентов с сахарным диабетом рекомендуется включать лекарственные растения Таджикистана с преобладанием щелочных и щёлочноземельных элементов (Na; Ca; K; Mg), наиболее часто встречающихся в качестве компонентов в рецептах Авиценны для лечения диабета: душица мелкоцветковая (*Origanum tyttanthum* Gontsch.), горный укроп (*Anethum graveolens* L.), чабрец (тимьян, *Thymus seravshanicus* Klok.), тысячелистник (*Achillea millefolium* L.), пижма (*Tanacetum pseudoachillea* C. Winkl.), гармала обыкновенная (*Peganum harmala* L.), зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.), смородина (*Ribes meyeri* Maxim.), ромашка (*Matricaria recutita* L.), мята полевая (*Mentha arvensis* L.), солодка голая (*Glycyrrhiza glabra* L.), чернушка посевная (*Nigella sativa* L.), кориандр посевной (*Coriandrum sativum* L.), фенхель (*Foeniculum vulgare* Mill.), бессмертник (*Helichrysum* sp. Mill.) и др.
5. В качестве экспериментальной модели инсулинорезистентности может быть использована разработанная автором модель с применением в качестве диабетогена кислого продукта-свежевыжатого натурального лимонного сока («Способ моделирования инсулинорезистентности на белых крысах». Патент № TJ 1018).
6. В целях профилактики метаболического ацидоза при диабете рекомендуется строго ограничивать употребление в пищу таких лекарственно-пищевых средств как сок лимона, напиток из плодов шиповника и других продуктов, содержащих органические кислоты.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Нуралиев, Ю.Н. Историческое значение учения Ибн Сины о диабете / Ю.Н. Нуралиев, **М.У. Шарофова** // В кн.: Ибн Сина и культура его эпохи. Душанбе: Дониш. – 2005. – С. 295-316.
2. **Шарофова, М.У.** О некоторых пищевых растениях, рекомендованных Авиценной для лечения диабета / М.У. Шарофова // **Вестник Авиценны**. – 2006. – №1-2. – С. 420-424.
3. **Шарофова, М.У.** Камеди и камеде-смолы, рекомендованные Авиценной для терапии диабета / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев // В кн.: Фитотерапия, биологически активные вещества естественного происхождения в современной медицине. – Черноголовка. – 2006. – С. 301-307.
4. **Шарофова, М.У.** О перспективах изучения наследия Ибн Сины / М.У. Шарофова, З.Б. Бахромова, Т.М. Зубайдова // **Вестник Авиценны**. – 2006. – №1-2. – С. 688-691.
5. **Шарофова, М.У.** Приоритеты Авиценны по диабетологии и их значение для современной медицины / М.У. Шарофова // **Вестник Авиценны**. – 2007. – №2. – С.133-140.
6. **Шарофова, М.У.** Фитотерапия. Методическое пособие по общим вопросам метода фитотерапии / М.У. Шарофова и соавт. Душанбе: Дониш. – 2009. – 78 С.
7. Нуралиев, Ю.Н. Миниканон предиабета / Ю.Н. Нуралиев, **М.У. Шарофова**. – Душанбе: «Контраст». – 2011. – 116 С.
8. **Sharofova, M.U.** Classification of prediabetes at the intersection of modern medicine and the medical system of Ibn Sina / M.U. Sharofova, Yu.N. Nuraliev // 9th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. – 2011. – P. 145- 147.
9. Нуралиев, Ю.Н. Эндозкология и перспективы терапии предиабета / Ю.Н. Нуралиев, **М.У. Шарофова**, Х.А. Ганиев. – Душанбе: «Шахпар». – 2012. – 208 С.
10. **Шарофова, М.У.**, Нуралиев Ю.Н. К проблеме классификации предиабета / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев // **Вестник ТНУ**. – 2012. – №1|1 (77). – С. 224 – 228.
11. **Шарофова, М.У.** Вклад Абу Али ибн Сино в терапию сахарного диабета камедью и её значение для современной медицины / М.У. Шарофова // **Вестник ТНУ**. – 2012. – №1|1 (77). – С. 162–166.
12. **Шарофова, М.У.** Коррекция диабетических метаболических нарушений антидиабетическим сбором «Новобет» / М.У. Шарофова // **Здравоохранение**

- Таджикистана. – 2012. – №2. – С. 58-62.
13. Нуралиев, Ю.Н. Когда и почему сок плодов лимона – *Citrus limon* (L.) становятся предиабетогенами / Ю.Н. Нуралиев, **М.У. Шарофова**, Х.А. Ганиев // Практическая фитотерапия, Москва, 2012, №2. – с. 30-35.
 14. **Шарофова, М.У.** Влияние фитосбора «Новобет» на метаболический процесс при диабете / М.У. Шарофова // Е-bookна сайте: www.lap-publishing.com, февраль. – 2013.– 155 С.
 15. **Шарофова, М.У.** Способы лечения диабета в «Каноне врачебной науки» и их значение для современной диабетологии / М.У. Шарофова // В кн.: Философия и современность. Материалы научной конференции АН РТ, посвященной Всемирному дню философии и 1000-летию «Канона врачебной науки». - Душанбе: ООО «Паёми ошно». – 2013. – Т.2. – С. 136-148.
 16. **Шарофова, М.У.** Вопросы этиопатогенеза и лечения диабета в медицине Авиценны и их значение для современной медицины / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев // **Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.** – 2013. – том 11. – С. 153-155.
 17. Нуралиев, Ю.Н. Гепатотоксическое и диабетогенное действие плодов лимона на стыке медицины Авиценны и современной медицины / Ю.Н. Нуралиев, Х.А. Ганиев, **М.У. Шарофова**, Т.М. Зубайдова, Н.Ю.Самандаров // **Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.** – 2013. – Том 11. – С. 114-115.
 18. Нуралиев, Ю. Диабетогенные факторы риска по Авиценне / Ю. Нуралиев, **М. Шарофова**, Х. Ганиев. – Душанбе: «Контраст». – 2013. – 184 С.
 19. **Шарофова, М.У.** Общая фармакологическая характеристика авиценновских антидиабетических лекарственных средств / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев // **Вестник Тадж. Нац. Университета**, Душанбе, 2013, 1/2 (106). – С. 212-221.
 20. **Шарофова, М.У.** Тактика и способы лечения диабета в «Каноне врачебной науки», их значение для современной медицины / М.У. Шарофова // International Conference on the Indian Shilpa and the Cultural Resurgence from the Sassanids to Seljuqids. India. – 2014. – P.105-112.
 21. **Шарофова, М.У.** Учение Ибн Сины о диабетогенезе, тактика общей терапии диабета и антидиабетические средства / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев //

- Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.** – 2014.
– Том 12. – №3. – С. 64-69.
22. Нуралиев, Ю. Методическое пособие для обучения местных жителей Дарваза по культивированию, сбору и первичной обработке лекарственных растений / Ю. Нуралиев, **М. Шарофова**, Ф. Калонов – Душанбе: «Нашриёти Бухоро». – 2014. – 23 С.
23. Нуралиев, Ю. Абу Али ибн Сина об опасности последствия терапии сахарного диабета по принципу «подобного подобным» / Ю.Нуралиев, **М. Шарофова** // **Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.** – 2015. – Т. 13. – №2. – С. 118-119.
24. **Шарофова, М.** Антидиабетическое и коррегирующее метаболизм действие сбора «Новобет» / М. Шарофова // **Обзоры по клинической и фармакологии и лекарственной терапии.** – 2015. – Т. 13. – №2. – С. 196-197.
25. Нуралиев, Ю.Н. О сущности и тяжёлых последствиях тактики терапии сахарного диабета по принципу «подобное подобным» / Ю.Н. Нуралиев, **М.У. Шарофова**, Ш.С. Сагдиева // **Вестник Авиценны.** – 2015. – № 3(64). – С. 151-156.
26. **Шарофова, М.У.** Тактика терапии диабета по принципу «противоположное противоположным» в «Каноне врачебной науки» Авиценны и её актуальность для современной медицины / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев, Ш.С. Сагдиева // **Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.** – 2015. – Т. 13. – №3. – С. 63-69.
27. **Шарофова, М.У.** Методы терапии сахарного диабета от Авиценны до наших дней / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев, Ш.С. Сагдиева / 4-й Международный съезд фитотерапевтов и травников. «Современные проблемы фитотерапии и травничества». – 2016. – С. 193-197.
28. **Sharofova, M.** Acid dietary as diabetogenic risk factors / M. Sharofova, Yu. Nuraliev, Kh. Ganiev, P. Suhrobov, T. Zubaydova, N. Samandarov, M. Mirshahi // International Educational Scientific Research Journal. E-ISSN No: 2455-295X. – 2016. – Vol. 2. – Issue 9. – P. 51-56.
29. Нуралиев, Ю. Фитотерапия «Фитобар – эндэкологически-оздоровительные аспекты» / Ю. Нуралиев, **М. Шарофова**, Х. Ганиев, Ш. Сагдиева, Ш. Шарипов // Практическое руководство. – Душанбе: «Бухоро». – 2016. – 156 С.

30. **Шарофова, М.У.** Опыт Авиценны и возможности улучшения терапии сахарного диабета / М.У. Шарофова // **Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.** – 2017. – Т. 15. – №1. – С. 58-67.
31. **Шарофова, М.У.** Особенности взаимосвязей фитохимического состава антидиабетических лекарственных растений с их лечебными свойствами /М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев, Ш.С. Сагдиева // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2017. – Т.20. – №5. – С. 41-48.
32. Numonov, S. Evaluation of the Antidiabetic Activity and Chemical Composition of *Geranium collinum* Root Extracts—Computational and Experimental Investigations / S. Numonov, S. Edirs, K.Bobakulov, M.N. Qureshi, K.Bozorov, F.Sharopov, N. Setzer William, H. Zhao, M. Habasi, **M. Sharofova**, H.Aisa // *Molecules.*- 2017. -V.22 (6). - P. 983. на 12 стр.
33. **Sharofova, M.** Can Avicenna Help Manage the Diabetes Epidemic in Central Asia? / Sharofova M., Nuraliev Y., Sukhrobov P., Sagdieva S. and Dushenkov V. // *Central Asian Journal of Medical Sciences.* – 2017. – V.3(3). – P. 200-220.
34. **Шарофова, М.У.** Механизм диабетогенеза по Авиценне и диабетогенные факторы риска / Шарофова М.У., Нуралиев Ю.Н., Сагдиева Ш.С., Сухробов П.Ш. // **Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.** – 2018. – Т. 16. – № 2. – С. 74–79.
35. **Шарофова, М.У.** Исследование антидиабетической и антиоксидантной активностей корней герани холмовой (*Geranium collinum* Steph.), произрастающей в Таджикистане / М.У. Шарофова, С.Р. Нумонов, П.Д. Шабанов, Ю.Н. Нуралиев // **Доклады Академии наук Республики Таджикистан.** – 2018, том 61, №1. – С. 95-101.
36. **Шарофова, М.У.** Исследование антидиабетических свойств надземных частей чернушки посевной (*Nigella sativa* L.) / **М.У. Шарофова**, Ю.Н. Нуралиев, П.Д. Шабанов, Ш.С. Сагдиева, П.Ш. Сухробов // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** – 2018, №10, том 21., С. 112-118.
37. **Шарофова, М.У.** К вопросу о содержании переходных элементов в структурах растений / М.У. Шарофова, Ш.С.Сагдиева, С.Ф.Абдуллаев, В.А.Маслов, Ф.Рахими, М.Миршахи // **Доклады Академии наук Республики Таджикистан.** – 2018. – Т. 61. – №4. – С. 350-359.

38. **Шарофова, М.У.** Особенности влияния лимонного сока на процесс диабетогенеза / М.У. Шарофова, Ю.Н. Нуралиев, Х.А. Ганиев. // **Доклады Академии наук Республики Таджикистан.** – 2018.–Т. 61.– №5.– С. 503-511.
39. **Sharofova, M.** Molecular approach to determine the hot and cold temperaments in plants according Avicenna concepts, the role of magnesium / M. Sharofova, I. Aldybiat, Sh. Sagdieva, N. Burkhonova, Yu. Nuraliev, F. Rahimi, M. Mirshahi // **Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin].** –2018.–V.20.–№4.–P.421-6. Available from: <http://dx.doi.org/10.25005/2074-0581-2018-20-4-421-426>.
40. **Sharofova, M.** Evaluation of antidiabetic activity, metabolic profiling and determination of major metabolites by LC-ESI/MS/MS of Novobet / M. Sharofova, S. Numonov, W.N. Setzer, P. Sukhrobov, F. Sharopov, Yu. Nuraliev, L. Jiang, L. Gafforzoda, M. Habasi // *American Journal of Essential Oils and Natural Products.* – 2018. – V.6.–№4. – P. 27-35.
41. Numonov, S. Volatile Secondary Metabolites with Potent Antidiabetic Activity from the Roots of *Prangos pabularia* Lindl. –Computational and Experimental Investigations / S. Numonov, F. Sharopov, S. Atolikhshoeva, A. Safomuddin, M. Bakri, W.N. Setzer, A. Musoev, **M. Sharofova**, M. Habasi, H.A. Aisa // *Applied sciences.* – 2019. –V. 9. – 2362; doi:10.3390/app 9112362
42. **Шарофова, М.У.** О простых антидиабетических средствах по Авиценне / М.У. Шарофова // **Вестник Авиценны.** – 2019.– Том 21.– № 3. – С. 482-487.
43. **Шарофова, М.У.** Сахарный диабет – современное состояние вопроса (1 часть) / М.У. Шарофова, Ш.С.Сагдиева, С.Дж. Юсуфи // **Вестник Авиценны.** – 2019.–Том 21.– №3. – С. 514-522.
44. **Шарофова М.У.** Патент № TJ 45. Средство «Новобет», обладающее антидиабетическим действием.
45. **Шарофова М.У.** и др. Патент № TJ 1018 «Способ моделирования инсулинорезистентности на белых крысах».

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

СД – сахарный диабет
ИР – инсулинорезистентность
ТГ – толерантность к глюкозе
ЛС – лимонный сок
ЛФК – лечебная физкультура
ФП – фитопрепараты
DPPH – 1,1-дифенил-2-пикрилгидразил
EDX – энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия
SEM – сканирующий электронный микроскоп
Hb-A1c – гликолизированный гемоглобин
HPLC – высокоэффективная жидкостная хроматография
HMQC – Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HMBC – Heteronuclear Multiple Bond Correlation
DEPT – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
IC₅₀ – концентрация полумаксимального ингибирования
LC-ESI-MS/MS – жидкостная хроматография, - электроспрей ионизация-масс-спектрометрия
MS – масс-спектрометрия
PTR-1B – протеинтирозинфосфатаза
UPLC – ультраэффективная жидкостная хроматография
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
ДМСО – диметилсульфоксид
ДФРА – диабетогенные факторы риска по Авиценне
КОС – кислотно-основное состояние
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
ЛПОНП – липопротеины очень низкой плотности
ПОЛ – перекисное окисление липидов
МДА – малоновый диальдегид
НИЗ – неинфекционные заболевания
ЯМР – ядерно-магнитный резонанс
NO – оксид азота
NSL – *Nigella sativa* L.
SA – *Staphylococcus aureus*
CA – *Candida albicans*
EC – *Escherichia coli*
NSL – *Nigella sativa* L.
АД/ ФП – антидиабетические фитопрепараты