

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԳԱՍՊԱՐՅԱՆ ԳԵՈՐԳ ԳԵՂԱՅՐԻ

ԴԱՓՆՈՒ ԱԶՆՎԱԿԱՆԻ (*LAURUS NOBILIS*L.) ԷՔՍՏՐԱԿՏԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆՆ
ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ԿԱՐԳԱՎԻՃԱԿԻ ԵՎ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ
ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՎՐԱ ՏԵՏՐԱՔԼՈՐԱՄԻՍՄՈՆՎ ԻՆՏՈՔՍԻԿԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Գ.00.04 – Կենսաքիմիա մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

Ս Ե Ղ Ս Ա Գ Ի Ր

ԵՐԵՎԱՆ 2015

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РА
ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ГАСПАРЯН ГЕОРГ ГЕХАЙРОВИЧ

ДЕЙСТВИЕ ЭКСТРАКТА ЛАВРА БЛАГОРОДНОГО (*LAURUS NOBILIS*L.) НА
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПЕЧЕНИ
КРЫС ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ЧЕТЫРЁХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
03.00.04 – Биохимия

ЕРЕВАН 2015

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Ռուս-Հայկական (Սլավոնական) համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝ կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Հ. Ռ. Վարդապետյան


Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Ս. Պ. Հովհաննիսյան
կենս. գիտ. դոկտոր,
պրոֆեսոր Գ. Ս. Վարդանյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԳԱԱ Մոլեկուլային կենսաբանության
ինստիտուտ

Ատենախոսության պաշտպանությունը կայանալու է 2015թ. հուլիսի 3-ին, ժամը 14⁰⁰-ին, Երևանի պետական համալսարանում գործող ՀՀ ԲՈՂ-ի Կենսաաֆիզիկայի 051 մասնագիտական խորհրդի նիստում (0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան փ. 1, ԵՊՀ, կենսաբանության ֆակուլտետ):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի պետական համալսարանի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2015թ. մայիսի 29-ին:

051 Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար,
կենս. գիտ. թեկնածու, դոցենտ՝  Ս. Ա. Փարսադանյան

Тема диссертации утверждена в Российско-Армянском (Славянском) университете

Научный руководитель: доктор биол. наук,
профессор Г. Р. Вардапетян

Официальные оппоненты: доктор биол. наук,
профессор С. П. Оганесян
доктор биол. наук,
профессор Г. С. Варданян

Ведущая организация: Институт молекулярной биологии НАН РА

Защита диссертации состоится 3-го июля 2015г., в 14⁰⁰ часов, на заседании Специализированного совета 051 по Биофизике ВАК РА при Ереванском государственном университете (0025, Ереван, ул. Алека Манукяна 1, ЕГУ, биологический факультет).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ереванского государственного университета.

Автореферат диссертации разослан 29-го мая 2015г.

Ученый секретарь Специализированного совета 051
кандидат биологических наук, доцент



М.А. Парсаданян

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Современная фитотерапевтика, биотехнология, биохимия растений, уделяют существенное внимание выявлению активных компонентов растительных экстрактов, новых фитотерапевтических соединений и механизмов их действия. Растительные экстракты - это концентрированные сбалансированные смеси биологически активных веществ, обладающих многосторонним действием. Обладая высокой биологической активностью, эти вещества участвуют в процессах обмена, выполняют «экологические» и защитные функции, предохраняя растения от различных вредителей, патогенов и т.д. Вторичные метаболиты вследствие своей высокой биологической эффективности используются и могут быть использованы в качестве лекарственных препаратов при лечении множества болезней. Следует отметить легкодоступность растений используемых в качестве сырья для получения вторичных метаболитов, что делает перспективу лечения различных заболеваний с использованием экстрактов растительного происхождения экономически выгодным и вседоступным. Современная медицина все чаще прибегает к фундаментальному исследованию лекарственных растений. Изучение биохимических и молекулярных механизмов действия лекарственных соединений является тем фундаментом, на котором может строиться терапия многих болезней, в том числе вирусных и опухолевых.

Спектр биологической активности лекарственных растений определяется наличием в их составе веществ разных химических классов, подклассов и групп, которые могут обладать мультиплетным механизмом действия. Именно их количественный и качественный состав определяет доминирование и степень выраженности того или иного фармакологического эффекта конкретного растения и его выбор при назначении в качестве лечебного и профилактического средства.

Проблема лечения гепатитов различной этиологии является чрезвычайно актуальной задачей практической медицины. Несмотря на большой арсенал используемых гепатопротекторов, современной медицине не всегда удается достичь повышения регенераторной активности и предотвращения развития фиброза и цирроза печени.

Одним из наиболее перспективных путей решения данной проблемы является конструирование или поиск новых препаратов, отвечающих ряду требований, таких как доступность в препаративных количествах, стабильность, отсутствие побочного действия и аллергических реакций и т.д. С целью выявления терапевтических свойств этих препаратов широко используются разные модельные системы. Сочетание различных *in vitro* и *in vivo* тестов может, как увеличить объём скрининга биологически активных компонентов, так и способствовать более глубокому пониманию возможных механизмов их действия. Подобные модели могут найти применение в различных областях медицины для изучения возможностей направленного действия терапевтических средств на физиологические процессы и повышения их эффективности при лечении целого ряда заболеваний. Предпосылками для таких работ послужили результаты исследований, свидетельствующие о том, что изучение биохимических и молекулярных механизмов действия лекарственных соединений является тем фундаментом, на котором может строиться терапия многих болезней, в том числе гепатитов различной этиологии.

Фенольные и полифенольные соединения представлены группой вторичных метаболитов, которые часто встречаются в овощах, фруктах, вине, чае, шоколаде и других продуктах и имеют важное значение в питании человека. Они в основном являются производным и/или изомерами флавонов, изофлавонов, флавонолов, кате-

хинов и фенольных кислот. Ключевым свойством флавоноидов является их антиоксидантная активность. Именно свойством флавоноидов подавлять развитие перекисного окисления липидов, белков и нуклеиновых кислот обусловлена универсальность действия флавоноидов на факторы патогенеза большого числа заболеваний. Существует несколько универсальных особенностей, свойственных всем флавоноидам: подавление перекисных процессов, предотвращение образования токсичных продуктов, возникающих за счет образования супероксид радикалов и перекисей водорода.

Антиоксидантный эффект флавоноидов реализуется в основном по комбинированному механизму действия и зависит от структуры этих веществ. Показано, что флавоноиды имеют терапевтическое значение и предотвращают развитие многих заболеваний.

В фитотерапии издревне широко применяются растения рода семейства лавровых (*Lauraceae*) в виде различных экстрактов и масел, содержащих фармакологически активные соединения, такие как кверцетин, эвкалиптол, морин, пинены и т.д. Фармацевтическая важность этих растений быстро возросла, особенно в связи с обнаружением антимикробной, противовоспалительной, антиатерогенной активностей экстрактов и масел листьев семейства лавровых.

Исходя из вышесказанного, исследование возможности использования экстрактов лавра для лечения гепатитов различной этиологии весьма актуально.

Цель и задачи исследования

Целью диссертационной работы являлась оценка воздействия этанольных экстрактов *Laurus nobilis*, *Ocimum basilicum* и *Plantago major* как гепатопротектора в условиях цитотоксического воздействия CCl_4 , при одновременном исследовании гистоморфологии и основных биохимических маркеров токсического поражения гепатоцитов. Определение биохимических механизмов их действия, а также выявление возможности их использования при лечении гепатитов различной этиологии. С этой целью проводилось получение и исследование качественного и количественного состава этанольных экстрактов. Гепатопротекторные свойства экстрактов исследовались на классической модели токсического повреждения печени крыс внутрибрюшинным введением CCl_4 .

В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

- Определить содержание флавоноидов и антирадикальную активность этанольных экстрактов вышеуказанных растений.
- Провести ВЭЖХ анализ этанольных экстрактов исследуемых растений.
- Исследовать влияние экстрактов на выживаемость крыс при внутрибрюшинном введении летальной дозы CCl_4 (0,2 мл на 100 гр. массы крысы).
- Исследовать влияние экстракта *L. nobilis* на изменения уровня аспаратаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ), глюкозы, альбумина, билирубина, холестерина, триацилглицеридов (ТАГ) и мочевины в плазме крови крыс при внутрибрюшинном введении летальной дозы CCl_4 .
- Определить гепатопротекторную активность экстракта *L. nobilis* при гепатотоксическом поражении печени крыс, вызванном действием CCl_4

Научная новизна и практическая ценность

- Определение антирадикальной активности и общее количество флавоноидов этанольных экстрактов *P. major*, *L. nobilis*, *O. basilicum*.

- Впервые показано, что во всех исследованных экстрактах антирадикальная активность не коррелирует с общим количеством флавоноидов в них.
- Впервые показано, что введение этанольного экстракта *L. nobilis* приводит к 100%-ой выживаемости крыс, которым вводили летальную дозу СС14.
- Обнаружено, что экстракт *L. nobilis* способствует снижению уровней аспартаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, γ -глутамилтрансферазы, альбумина и билирубина в плазме крови крыс при токсическом повреждении СС14.
- Показано, что этанольный экстракт *L. nobilis* стабилизирует такие биохимические показатели как: глюкоза, холестерин, триглицериды, мочевины.
- Выявлена положительная корреляция между содержанием кверцетина и морина с антирадикальной и антибактериальной активностью.
- Показано, что экстракт *L. nobilis* обладает выраженной гепатопротекторной активностью и ангиопротекторным действием и может быть использован при лечении цитотоксического повреждения печени.

На основании полученных результатов и основываясь на литературных данных нами предложена гипотетическая модель механизмов антиоксидантного действия экстрактов *L. nobilis*. Практическая ценность диссертационной работы заключается в том, что полученные результаты носят как фундаментальный, так и практический характер и направлены на выявление интимных механизмов биологической активности экстрактов *L. nobilis*.

Полученные в данной работе результаты открывают новые возможности для дальнейших исследований в данной области. Полученные данные могут быть использованы в специальных лекционных курсах для студентов соответствующих кафедр ЕГУ, ЕГМУ, РАУ, а также в научных лабораториях, занимающихся исследованием лечебных свойств природных биологически активных соединений.

На защиту выносятся следующие основные положения

В экстракте *P. major* мажорными компонентами были рутин, кверцетрин, морин, кверцетин.

В экстракте *O. basilicum* были идентифицированы рутин, кверцетин, морин, апигенин, кемпферол. Мажорными были кверцетин и рутин.

В экстракте *L. nobilis* также присутствовали все соединения, а мажорными фитоконпонентами были кверцетин и морин, причем содержание кверцетина превалировало в экстракте *L. nobilis* в 5,4 и 1,4 раз по сравнению с *P. major* и *O. basilicum*, соответственно. Содержание же морина в экстракте *L. nobilis* было в 5 и 17,3 раз больше чем в *P. major* и *O. basilicum*, соответственно.

Антирадикальная активность этанольного экстракта листьев *L. nobilis* в 1.4 раза выше, чем этанольного экстракта *O. basilicum* и в 5.4 раза выше чем этанольного экстракта *P. major*. Выявлена положительная корреляция между суммарным содержанием флавоноидов и антирадикальной активностью.

Введение этанольного экстракта *L. nobilis* приводит к 100%-ой выживаемости крыс, которым вводили летальную дозу СС14.

Использование экстракта листьев *L. nobilis* приводит к нормализации основных биохимических показателей крови подопытных животных. В частности понижаются активности АЛТ, АСТ, ЩФ и ГГТ на 30, 21, 68, и 35 %, соответственно.

Экстракт *L. nobilis* способствует снижению уровней аспартаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, γ -глутамилтрансферазы, альбумина и билирубина в плазме крови крыс при токсическом повреждении СС14.

На основании вышеизложенного нами предложена гипотетическая схема, предусматривающая действие экстрактов или их отдельных компонентов.

Апробация работы.

Материалы диссертации были доложены на международных и республиканских конференциях: седьмая годовичная научная конференция РАУ, Ереван 2012; международная научная конференция “Ломоносов”, Москва 2012; международный аспирантский форум "Современная наука: тенденции развития, проблемы и перспективы" (Ереван 2013), а также на семинарах кафедры Молекулярно-клеточной биологии и медицинской биохимии РАУ.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 статей и 2 тезиса.

Объем и структура работы. Работа изложена на 125 страницах, содержит 8 таблиц, 25 рисунков и 2-е схемы. Библиография включает 190 наименований литературных источников. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, изложения результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы приводятся: общее описание, характеристика, происхождение и медицинское применение базилика душистого (*Ocimum basilicum*), лавра благородного (*Laurus nobilis*), Подорожника большого (*Plantago major*). Обсуждаются общая характеристика флавоноидов, ряд вторичных метаболитов и их роль в биологии и медицине. Обсуждаются последствия интоксикации СС14 и системы антиоксидантной защиты организма. Подробно обсуждаются строение, функции и болезни печени. Приводятся литературные данные по гепатиту, циррозу печени, а также диагностика патологий печени. Краткое содержание остальных глав приводятся ниже.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Реактивы

В экспериментах были использованы (HCl), (NaCl), (KCl), (MgCl₂), (KHCO₃), (CH₃COONa), (CCl₄), (CHCl₃), ЭДТА, NaH₂PO₄, Na₂HPO₄, KН₂PO₄, трис-HCl, формалин (5%), Остальные реактивы были производства РА, марок о.с.ч. и ч.д.а.

Сбор и хранение растительного материала

Объектами исследования являлись растения, прорастающие на территории РА: лавр благородный (*Laurus nobilis*), базилик душистый (*Ocimum basilicum*), подорожник большой (*Plantago major*). Растительный материал, предварительно стерилизованный в 1% (V/V) растворе гипохлорида натрия, высушивали до 10% влажности.

Определение относительной влажности листьев

Листья предварительно стерилизовали в 1% (V/V) гипохлорита натрия, сушили до 10% влажности, замораживали и хранили при – 20°С для анализов. Относительную влажность листьев (ОВЛ) оценивали по методу (Ekanayake et al., 1993) и рассчитывали по следующей формуле: ОВЛ = (сырой вес - сухой вес)/(набухший вес - сухой вес) × 100 %.

Приготовление экстрактов

Порошок из высушенных листьев (1г) смешивали с 70% этанолом в соотношении 1:10 (г/мл) и инкубировали при комнатной температуре в течение 24-х часов. Экстракты центрифугировали в течение 5 мин при 5000 g.

Определение общего количества флавоноидов в экстрактах проводили колориметрическим методом (Hollman and Katan, 1999), при длине волны 430 нм на спектрофотометре UV/Vis (JENWAY 6405, Germany).

Антирадикальную активность (АРА)

АРА экстрактов измеряли колориметрическим методом с использованием стабильного радикала ДФПГ (Fluka) (Mensor et al., 2001). Значение IC₅₀ показывающее концентрации экстракта в 1мл раствора ДФПГ, необходимую для тушения 50% радикала, определяли из дозо-зависимых кривых АРА.

Забор крови

Кровь брали из воротной вены крыс стерильной иглой и помещали в стандартный Vacutainer фирмы Becton Dickinson International (США) с Na-цитратом. Хранилась в контейнерах при температуре +4°C.

Анализ экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Анализ исследуемых образцов выполняли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Shimadzu Lc-20 (Shimadzu, Япония) со спектрофотометрическим SPD-20А и диодно-матричным SPD-M20А детекторами при 370 нм и программным обеспечением обработки данных ChemStation.

Определение основных биохимических маркеров функционального статуса печени в плазме крови крыс

Опыты ставились на самцах здоровых беспородных белых крыс весом 200-220г. При работе с животными соблюдались все требования, предъявляемые Комитетом по этике.

Определение АЛТ

Определение АЛТ в плазме крови крыс проводили по методу Варбурга, с применением пиридоксаль-5-фосфата (Bergmeyer et al., 1986).

Определение АСТ

Определение АСТ в плазме крови крыс проводилось в соответствии с протоколом IFCC, но без пиридоксаль-5'-фосфата (Bergmeyer et al., 1986).

Определение ЩФ

ЩФ определялась по методу Бессея-Лоури-Брока, в соответствии с протоколом DGKCC, который основан на ферментативном гидролизе п-нитрофенилфосфата (Severin., 2003)

Определение γ-глутамилтрансферазы

ГГТ определялась в соответствии с протоколом Szasz, 74 (Farrance et al., 1975).

Определение глюкозы

Концентрация глюкозы определялась по методу Триндера (Liu et al., 1998).

Определение альбумина

Альбумин определялся в плазме крови с использованием бромкрезолового зелёного ("Альбумин-Ново", "Вектор-Бест")(Tvorogova., 2002).

Определение билирубина

Билирубин определяли интенсивностью окраски азопигмента с использованием набора "Билирубин-Ново-А (конъюгированный)" фирмы ЗАО "Вектор-Бест" (Chirikin., 2002).

Определение холестерина

Холестерол определялся реакцией Либермана—Бурхарда (метод Илька), при помощи набора реагентов фирмы "Биостарт" «Набор для определения холестерина» (Maggi et al., 1996).

Определение триацилглицеридов

ТАГ определяли колориметрическим ферментативным методом при 546 нм. (McGowan & Artiss 1983).

Определение мочевины

Мочевина определялась уреазно-салицилатным методом (реакция Бертлота) с применением набора реагентов «Новокарб» ЗАО «Вектор-Бест» (Menshikov 1987).

Коэффициент де Ритиса

Для оценки степени повреждения гепатоцитов при моделировании экспериментального гепатита (CCl₄) использовали коэффициент де Ритиса, представляющий собой отношение (АСТ/АЛТ) (М. С. Балаян, М. И. Михайлов. 2010г).

Гистоморфология

Геморрагический статус срезов печени подопытных животных оценивали гистохимическим методом при помощи цифрового микроскопа (Intel Play QX3) и программного пакета (ImageRepair3.19.) (Асатрян и др., 2007).

Статистическая обработка данных

Статистический анализ материала проводили на основе комплексного применения стандартных статистических методов: вычисления средних значений, стандартных отклонений, стандартных средних ошибок. Биологическая повторность опытов 4-6 кратная при проведении 2-3 серий опытов в каждом.

Антибактериальную активность экстрактов определяли относительно грам-отрицательных бактерий *E.coli* К-12, природно-лизогенного штамма из коллекции профессора А. Трчуныяна, методом дисковой диффузии на агаре (Bauer etal 1966).

Диаметр зон ингибирования с/без учета диаметра кора и площадь (пикс²) рассчитывали по специально разработанной программе “ImageRepair” (Asatryan et al 2007).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание флавоноидов в растительных экстрактах

Результаты определения общего количества флавоноидов в спиртовых экстрактах представлены в таблице 1. Как видно из таблицы, наибольшее общее количество флавоноидов среди исследованных экстрактов было обнаружено в экстракте *O. basilicum* (27,2 мкг/мл), а наименьшее количество было показано в экстракте *P. major* (10,9 мкг/мл). По общему содержанию флавоноидов экстракты можно построить в следующем ряду убывания: *O. basilicum* > *L. Nobilis* > *P. major*.

Таблица 1

Общее количество флавоноидов, значение IC₅₀, и антибактериальная активность (площадь зон ингибирования в пикс²) тестируемых экстрактов. Приведены усредненные значения для 4-х независимых экспериментов ± SD, (p<0.05).

| Образцы | Флавоноиды (мкг/мл) | IC ₅₀ (мкг/мл) | S пикс ² |
|---------------------|---------------------|---------------------------|---------------------|
| <i>P. major</i> | 10,9±0,08 | 1,9±0,14 | 2460 |
| <i>L. nobilis</i> | 26,60 ± 0.15 | 1,6 ± 0,05 | 2910 |
| <i>O. basilicum</i> | 27,2 ± 0,11 | 3,9 ± 0,08 | 2177 |

Антирадикальная активность экстрактов

Общее количество флавоноидов и антирадикальная активность экстрактов представлены в таблице 1 и на рисунке 1. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что в исследованных нами экстрактах не наблюдается корреляции между антирадикальной активностью и общим количеством флавоноидов в них. Из исследуемых этанольных экстрактов наивысшая антирадикальная активность была выявлена у экстракта *L.nobilis* (IC₅₀ = 1.9 мкг/мл), а наименьшая активность у экстракта *O. basilicum* (IC₅₀ = 3,9 мкг/мл).

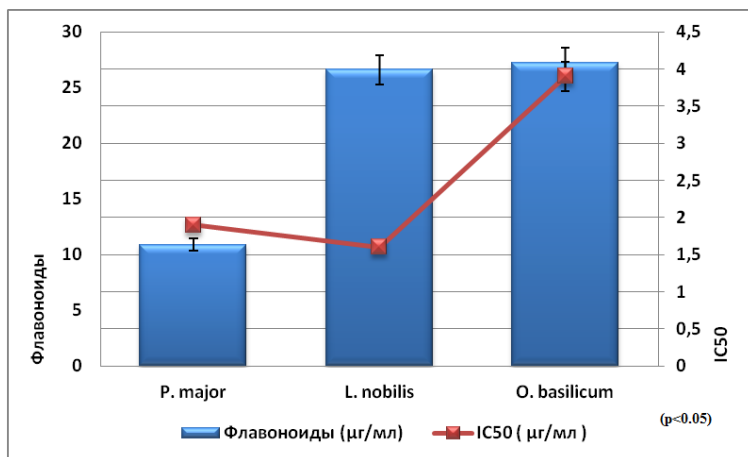


Рис. 1. Содержание суммарных флавоноидов и значение IC_{50} этанольных экстрактов *P. major*, *L. nobilis* и *O. basilicum*.

Токсическое повреждение печени

Следует отметить, что введение животным летальной дозы CCl_4 приводило к 100% летальному исходу до 36 часов. При совместном введении CCl_4 и экстрактов *O. basilicum*, *P. major* животные погибали на вторые и четвертые сутки, соответственно. Совместное же введение CCl_4 и экстракта *L. nobilis* приводит к 100% выживаемости.

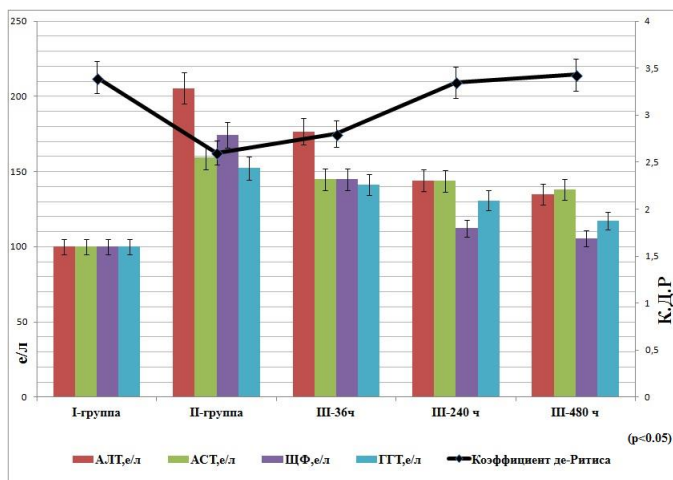


Рис. 2. Динамика изменения активности АЛТ, АСТ, ЩФ, ГГТ (е/л) в плазме крови крыс через 36, 240 и 480 часов после введения CCl_4 и экстракта листьев лавра и значения коэффициента де Ритиса (К.Д.Р.).

На рисунке 2 показана динамика изменения активности ферментов печени крыс при интоксикации CCl_4 и его совместном действии с *L. nobilis* в течение 36; 240; 480 часов и значения коэффициента де Ритиса. Использование экстракта листьев *L. nobilis*

приводит к нормализации основных биохимических показателей крови подопытных животных.

Коэффициент де Ритиса (К.Д.Р.) в контрольной группе составил 3,4, в группе под воздействием CCl_4 это соотношение равнялось 2,6, что наглядно показывает отклонение от нормы, характеризующее печеночное повреждение. К.Д.Р. для III-ей группы крыс равнялся 2,8; 3,35 и 3,43 для подгрупп животных, забитых спустя 36, 240 и 480 часов, соответственно

Таким образом, введение экстрактов листьев лавра приводит к нормализации активности АЛТ и АСТ. Значения коэффициента де Ритиса (АСТ/АЛТ), расположенные в порядке возрастания в сторону нормальных показателей, выглядят следующим образом: $CCl_4 < 36 \text{ часов} < 240 \text{ часов} < 480 \text{ часов} < \text{норма}$.

В таблице 2 приведены данные, характеризующие изменения биосинтетических параметров печени.

Таблица 2

Действие экстракта листьев лавра на биосинтетические маркеры печени в плазме крови контрольных и экспериментальных животных после инъекции CCl_4

| | контроль | CCl_4 | CCl_4 + экстракт лавра | | |
|------------------|----------|----------|--------------------------|----------|----------|
| | | | 36 час | 240 час | 480 час |
| Глюкоза мМ/л | 7,7±0,4 | 5,0±0,3 | 5,1±0,3 | 5,2±0,5 | 6,7±0,5 |
| Альбумин, г/л | 69,5±4,7 | 47,3±3,3 | 51,5±2,7 | 55,7±4,4 | 57,7±4,1 |
| Билирубин, мкМ/л | 4,0±0,3 | 6,2±0,5 | 6,9±0,6 | 11,7±0,7 | 9,3±0,9 |

Как видно из таблицы 2 наблюдается также возрастание уровня конъюгированного (прямого) билирубина, что в свою очередь характерно для синдрома печеночной недостаточности – холестаза. Такие изменения происходят из-за нарушений самих гепатоцитов. Достоверное уменьшение уровня альбумина, основного белка плазмы, синтезируемого только в печени, свидетельствует о недостаточности ее синтетической функции. Изменения показателей холестерина, ТАГ и мочевины приведены в таблице 3.

Таблица 3

Действие экстракта листьев лавра на липидный профиль и уровень мочевины в плазме крови животных инъецированных CCl_4 .

| | контроль | CCl_4 | CCl_4 + экстракт лавра | | |
|--------------------|----------|----------|--------------------------|----------|----------|
| | | | 36 час | 240 час | 480 час |
| Холестерин, мМ/л | 1,4±0,09 | 1,8±0,07 | 1,1±0,05 | 0,5±0,03 | 0,7±0,06 |
| Триглицериды, мМ/л | 1,6±0,06 | 1,7±0,05 | 1,2±0,04 | 0,7±0,03 | 0,6±0,04 |
| Мочевина, мМ/л | 4,6±0,34 | 5,4±0,41 | 4,4±0,29 | 3,5±0,24 | 3,3±0,19 |

В плазме крови крыс, интоксцированных CCl_4 , спустя 36 часов наблюдалось повышение количества холестерина (1,3 раза) и ТАГ (1,1раз) по сравнению с интактными животными.

Гистоморфология

На рисунке 3 представлены микрофотографии срезов печени крыс, подтверждающие диффузное поражение печени с распространенным некрозом гепатоцитов, периваскулярный и перичеселлюлярный отек.

В III-ей группе животных в течение эксперимента отмечалось улучшение сохранности гепатоцитов как при 10 дневном эксперименте, так и при 20 дневном (Рис.3) 1(C) и 1(D) соответственно. В основной ткани печени наблюдаются процессы нормализации - было выявлено снижение плотности очагов некроза.

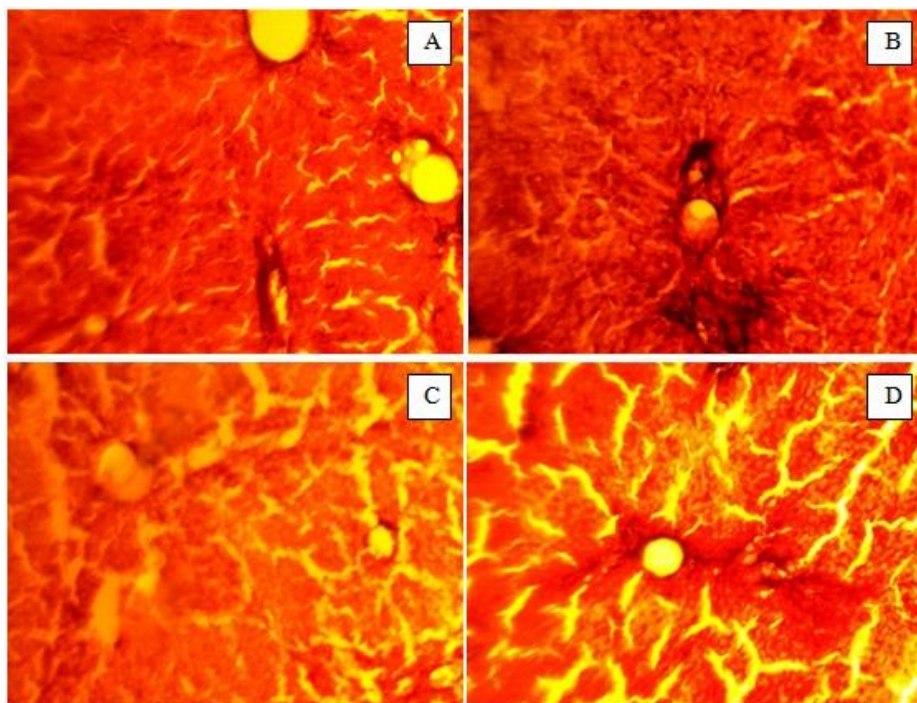


Рис.3. Фотографии срезов печени крыс по методу Чилингарян (x 200) :
А- (норма), В - (36ч.), С - (240ч.), D – (480ч.).

Бинарификация

На рисунке 4 представлены микрофотографии срезов после бинарификации. Площадь темной зоны в образце 2А составила 105654 ± 374 пикселей и была принята за 100% (норма), в образце 2В – 117638 ± 128 пикселей, в образце 2С – 79845 ± 345 пикселей и в образце 2D 55359 ± 545 пикселей. Площадь каждой микрофотографии составляла 121 102 пикселей. Т.о. данные гистохимического анализа свидетельствуют о значительном гепатопротекторном действии спиртового экстракта лавра, которое выражается в уменьшении площади поврежденной зоны на 47%.

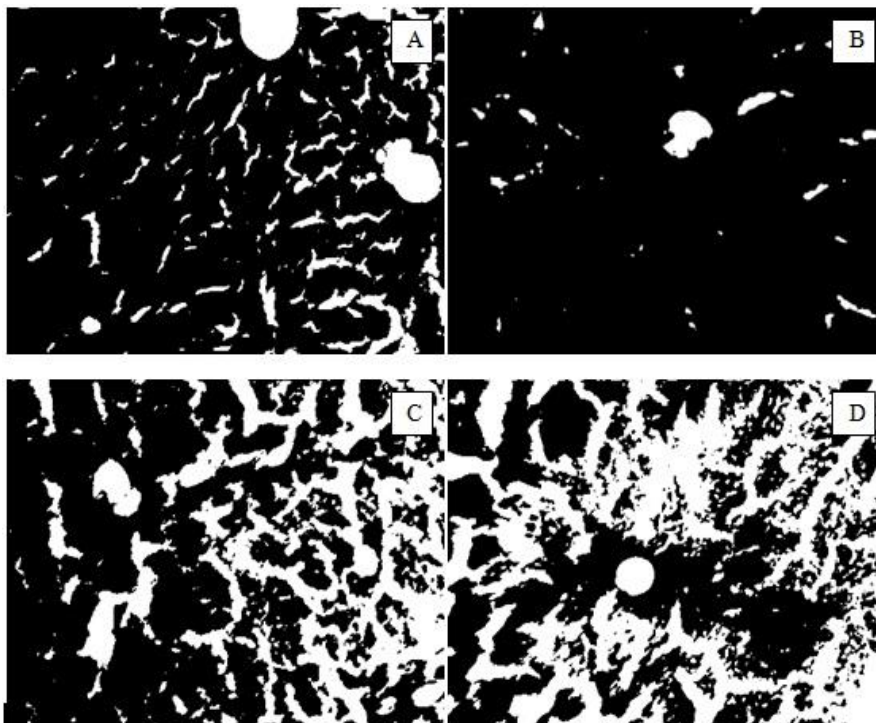


Рис.4. Бинарифицированные изображения срезов печени крыс: А- норма (100%); В- 36 час (111,3%); С- 10 дней (75,6%); D- 20 дней (52,4%.)

Анализ экстрактов методом ВЭЖХ

На рисунке 5 приведена хроматограмма ВЭЖХ анализа этанольного экстракта *L.nobilis*. ВЭЖХ анализ был проведен на наличие рутина, кверцетрина, морина, кверцетина, апигенина и кэмпферола.

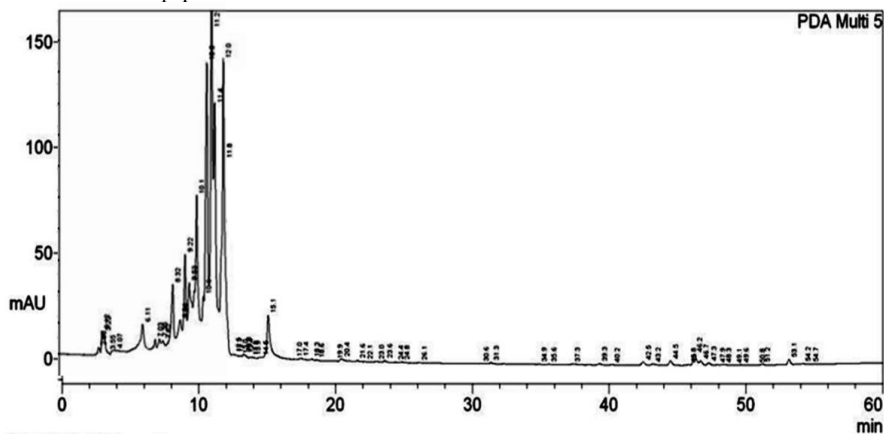


Рис.5. Хроматограмма спиртового экстракта *L.nobilis*.

Процентное содержание фитокомпонентов в экстрактах приведено в таблице 4.

Таблица 4.

Содержание флавоноидных компонентов в спиртовых экстрактах *O. basilicum*, *P. major* и *L.nobilis*, рассчитанное из результатов ВЭЖХ анализа .

| Фитокомпоненты | Время удерживания | Содержание | | | | | |
|----------------|-------------------|---------------------|-------|-----------------|-------|------------------|-------|
| | | <i>O. basilicum</i> | | <i>P. major</i> | | <i>L.nobilis</i> | |
| | | % | мкг/г | % | мкг/г | % | мкг/г |
| Рутин | 3.2 | 3,2 | 3,1 | 2,02 | 5,97 | 2,5 | 2,84 |
| Кверцетрин | 6.1 | - | - | 1,49 | 4,41 | 2,7 | 3,07 |
| Морин | 13.4 | 0,8 | 0,86 | 1,03 | 3,04 | 13,1 | 14,91 |
| Кверцетин | 15.1 | 14,6 | 15,77 | 1,36 | 4,02 | 19,0 | 21,63 |
| Апигенин | 17.5 | 0,25 | 0,27 | 0,29 | 0,86 | 0,7 | 0,79 |
| Кемпферол | 18.3 | 0,63 | 0,68 | 0,37 | 1,09 | 0,8 | 0,91 |

В экстракте *L.nobilis* присутствовали все соединения, а мажорными фитокомпонентами были кверцетин и морин, причем содержание кверцетина превалировало в экстракте *L.nobilis* в 5,4 и 1,4 раз по сравнению с *P. major* и *O. basilicum*, соответственно. Содержание же морина в экстракте *L.nobilis* было в 5 и 17,3 раз больше чем в *P. major* и *O. basilicum*, соответственно.

На рисунке 6 представлены количественные значения основных фитокомпонентов (Рутин, Кверцетин, Морин) исследуемых растений. Антибактериальная активность (АБА) относительно дикого штамма грам отрицательных бактерий *E. Coli* K12 приведена в %, где за 100% принята антибактериальная активность компонентов *L. nobilis*.

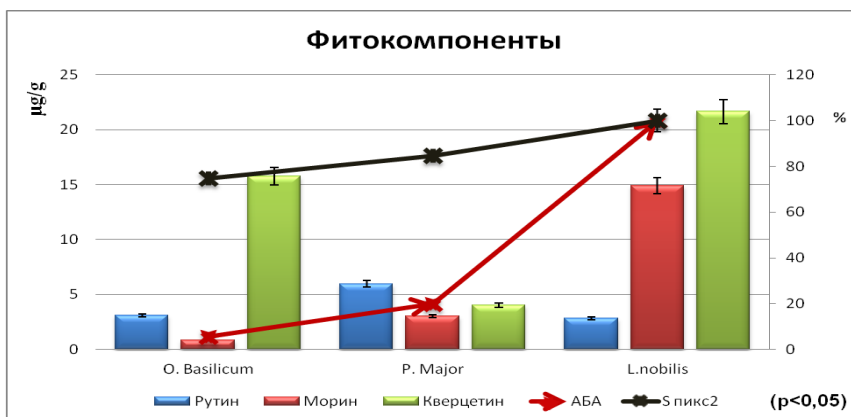


Рис.6. Содержание рутина, морина и кверцетина в мкг/г сухого веса листьев *O. basilicum*, *P. major* и *L. nobilis*. Их суммарная антибактериальная активность (АБА), и изменение площади зон ингибирования (S пикс²) в %.

Суммарная антибактериальная активность трех мажорных компонентов флавоноидного ряда прямо пропорциональна содержанию морина, или практически обусловлена им, поскольку для морина она была в 20 и более раз больше, чем антибактериальная активность остальных двух компонентов, то их вклад не вносил существенных изменений в общую картину ингибирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проведен сравнительный анализ антирадикальной активности этанольных экстрактов традиционно используемых растений *L. nobilis*, *O. basilicum*, *P. major* и тотального содержания в них флавоноидов.

Наивысшую АРА на модели ДФПГ проявлял экстракт *L. nobilis* ($IC_{50}=1,6 \pm 0,05$ мкг/мл), а наименьшую – *O. basilicum* ($IC_{50}=3,9 \pm 0,08$ мкг/мл). Биологическая активность экстрактов как антитоксических агентов была изучена на модели выживаемости беспородных крыс при внутрибрюшинном введении летальной дозы CCl_4 .

Результаты показали, что до 36 часов с момента введения CCl_4 не наблюдалось выживания крыс, однако, было отмечено увеличение средней продолжительности жизни животных, которым были введены экстракты *O. basilicum*, *P. major*. Совместное же введение CCl_4 и экстракта *L. nobilis* приводит к 100% выживаемости. Поэтому все исследования основных индикаторов повреждения печени в плазме крови. на животных проводили введением экстракта *L. nobilis*.

В плазме крови животных под действием летальной дозы CCl_4 наблюдается значительное увеличение активностей АЛТ и АСТ, что характерно для цитолиза, соответственно повышение уровня АСТ и АЛТ в плазме крови может свидетельствовать о повреждающем действии CCl_4 на гепатоциты и клетки миокарда.

При введении CCl_4 наблюдалось возрастание уровня основных индикаторов холестаза, таких как ЩФ (в 2 раза) и ГГТ (в 1.5 раза), а также уровня конъюгированного (прямого) билирубина из-за его возвращения в кровь после его конъюгации и нарушения захвата свободного билирубина гепатоцитами.

Использование экстракта листьев *L. nobilis* приводит к нормализации основных биохимических показателей крови подопытных животных. В частности понижаются активности АЛТ, АСТ, ЩФ и ГГТ на 30, 21, 68, и 35 %, соответственно. Наблюдается достоверное уменьшение уровня альбумина как результат нарушения синтетической функции печени, так и пониженного запаса альбуминов в плазме, а также как выражение эффекта разбавления.

В плазме крови животных II-ой группы наблюдается некоторое повышение содержания мочевины, концентрация которой в плазме зависит от скорости ее синтеза, скорости клубочковой фильтрации и скорости ренальной перфузии. Необходимо отметить, что у животных II-ой группы всегда наблюдалась гипертрофия почек, что могло привести к повышению уровня мочевины в плазме. Предполагается также что гибель животных при введении летальной дозы CCl_4 связана именно с острой почечной недостаточностью. Уровень глюкозы, наоборот, понижается в 1,5 раза в плазме крови крыс II-ой группы, что говорит о нарушении углеводного обмена при патологии печени. Причинами могут быть также нарушение питания, так как у животных наблюдалась апатия и отсутствие аппетита в течение 2-3 дней и/или интоксикация CCl_4 .

В плазме крови крыс II-ой группы наблюдалось повышение количества холестерина и ТАГ по сравнению с интактными животными. Одноразовое введение экстракта *L. nobilis* вместе с CCl_4 приводило к уменьшению холестерина и ТАГ в плазме и предотвращало воспаления и прогрессирование некроза, что можно объяснить наличием антиоксидантов, таких как флавоноиды, а также например, морин с высокой

анибактериальной активностью против энтеропатогенов. Однако к 20-му дню наблюдаются выраженные признаки липидизации печени, или стеатоз, причинами стеатоза исходно может быть оксидативный стресс при введении CCl_4 , приводящий к увеличению образования СЖК. При патогенезе печени регулирующая цепь основных регуляторов уровня холестерина и СЖК в печени -SREBPs нарушается вместе с принципом обратной связи, и действует конститутивный путь SREBP -1c и нарушенный путь SREBP -2, осуществляющий синтез холестерина но без синтеза рецепторов ЛПНП.

Нами предложена схема (Рис. 7), учитывающая мультиплетные параллельные патофизиологические пути липидизации печени, включая стеатоз и кишечные эндотоксины, окислительный стресс или провоспалительные цитокины .

ЛПС - компонент внешней оболочки грамотрицательных бактерий - взаимодействует с LBP и транспортируется в печень. При достижении концентрации кворум-сенсинга бактерий образуют биофильмы и приобретают вирулентность. ЛПС взаимодействует со специфическими рецепторами -сенсорами микробных сигналов CD 14 и TLR, приводя к трансдукции сигнала, что приводит к активации ядерного фактора каппа-бета и экспрессии NO-синтазы, TNF, интерлейкинов 1β и 6, COX1 и 2, адгезивных молекул и селектина. Макрофаги печени (звездчатые ретикулоциты) и моноциты активируются и высвобождают воспалительные медиаторы. Это служит предпосылкой развития синдрома системного воспалительного ответа (ССВО). Т.е. LPS вызывает воспалительные реакции с выделением цитокинов СЖК, АФК т.д.

COX-1 конститутивно экспрессируется во многих тканях и ответственен за различных физиологических функций, и практически не меняется при липидизации. COX-2 же в здоровой печени не детектируется но при липидизации печени индуцируется *de novo*. При этом увеличивается синтез простагландина. Это свидетельствует о роли эндотоксинов в жировом перерождении печени индукцией COX-2.

ПГ взаимодействуя с рецепторами ER3, способствуют увеличению синтеза TAG и их накоплению в печени предотвращая липолиз. СЖК может привести к токсичности за стимулированием окислительного стресса и активации воспалительных путей, печени, а накопление TAG может быть защитным механизмом, опосредованным ПГ. - ключевыми медиаторами клеточной сигнализации между клетками Купфера и гепатоцитами.

Данные последних лет свидетельствуют о вовлеченности эндоплазматического ретикулаума (ЭР) в развитии и прогрессировании гепатита. СЖК, DAG, фосфолипиды и холестерин активируют несколько путей клеточного стресса. Одним из эпицентров ответа на стресс является ЭР, Нарушение гомеостаза ЭР, часто называемое ER стрессом.

Важным звеном фиброгенеза также является воздействие эндотоксина, приводящее к активации цитокинов, среди которых особое внимание уделяется трансформирующему фактору роста (TGFb), под воздействием которого происходит трансформация жиронакапливающих клеток в фибробласты.

При ER стрессе и в фиброзных тканях активируется шаперон калретикулин (CRT), который регулирует внеклеточный матрикс стимулированием TGF, контролируя уровень внутриклеточного Ca^{2+} и NFAT сигналинга. TGF увеличивает цитозольный Ca^{2+} , выход которого зависит от CRT. Это приводит к активации кальцинейрина, который активирует NFAT и способствует ядерной транслокации, что может прямо или опосредованно стимулировать транскрипцию белков внеклеточного матрикса (ECM), например коллагена I Типа, участвующего в формировании фиброза.

Пролонгированный / или сильный ER стресс может также привести к неправильному фолдированию многих секреторных белков при ко-трансляционном фолдировании из-за сбоя ER шаперонов, таких как GRP 78, GRP94, белка-72 ER, калретикулина и калнексина. В частности, наблюдается уменьшение уровня правильно фолдированного ApoB100 и его секреции; ApoB100 –это главный апопротеин

рецепторов ЛНП. Следовательно, причиной уменьшения рецепторов ЛНП при одновременной работе SREBP-2 скорее всего является мисфолдинг ApoB100.

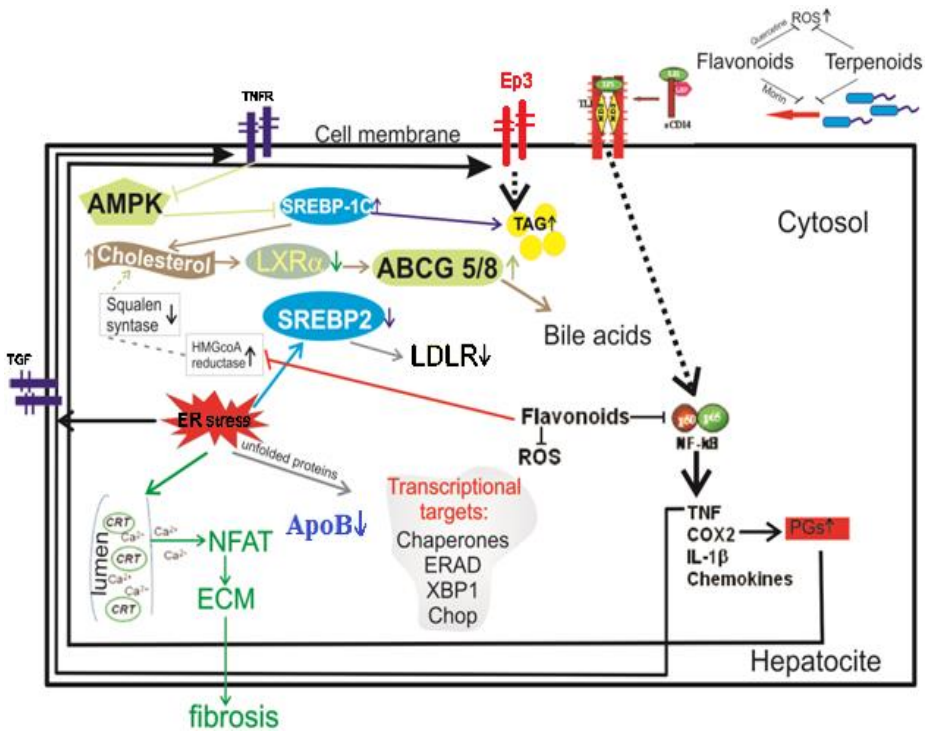


Рис.7. Схема патофизиологических путей и механизмы действия экстракта *L.nobilis*.

Одноразовое введение экстракта *L.nobilis* приводит к уменьшению воспаления и некроза печеночной ткани вероятно за счет уменьшения уровня АФК, уменьшает уровень и связывание эндотоксина к сенсорным рецепторам. Соответственно не будут активированы механизмы приводящие к индукции эффекторных провоспалительных медиаторов, в т.ч. COX2 и ПГ. Это в свою очередь активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу (РКА) и ингибирует АМПК, уменьшит индукцию ГМГ-КоА редуктазы и может быть одной из возможных причин понижения уровня холестерина в крови.

Одним из предполагаемых механизмов действия растительных вторичных метаболитов, в частности, флавоноидов, является ингибирование адгезинов, являющихся наиболее важной детерминантой патогенности бактерий, а связывание флавоноидов и флавонолов с ними может быть одной из основных причин противовоспалительного и антинекротического действия.

Антибактериальную и антиоксидантную активность могут проявлять также терпеноиды, например, *o*- кимен, феландрен, пинен, тимол и т.д.

Флавоноиды, в частности, кверцетин, уменьшают секрецию цитокинов из макрофагов, вызванную ЛПС, защищают от индуцированного ЛПС септического шока атенуацией перекисного окисления липидов и генерации NO, а также модулированием активности ингибиторов провоспалительных медиаторов NF-κβ, проявлением промодулирующих эффектов в эндотоксин-вызванной гепатотоксичности.

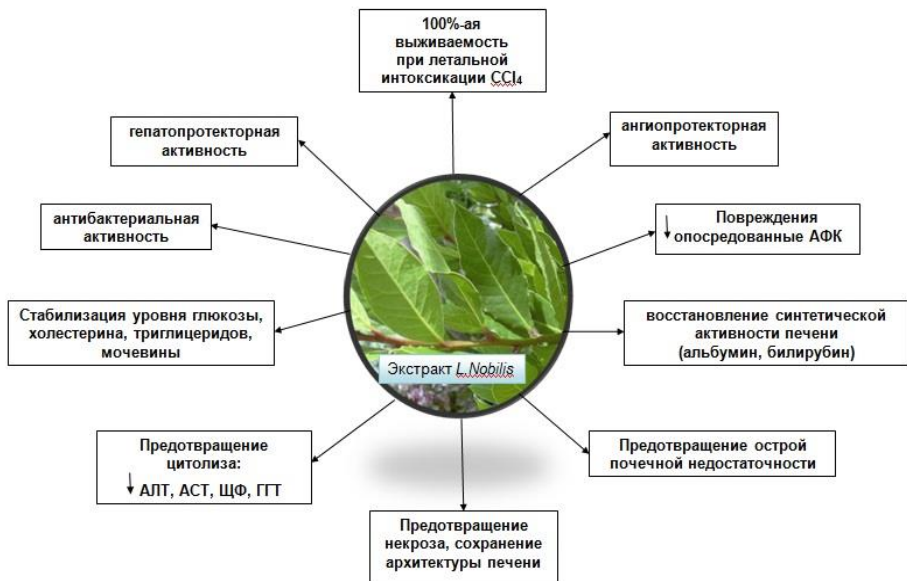


Рис.8. Суммарное действие экстракта лавра благородного

Обобщая все вышесказанное, можно предложить схему суммарного действия экстракта лавра благородного (Рис.8), из которого следует, что применение экстракта предотвращает летальный исход, вызванный CCl_4 , понижает степень повреждений печени, вызванных АФК, возвращая уровни АФК до нормальных, нормализует уровни основных ферментативных маркеров цитолиза и холестаза, обладает ангио- и гепатопротекторным действием, предотвращает острую почечную недостаточность, стабилизирует цитоархитектуру печени.

ВЫВОДЫ

1. Этанольные экстракты *P. major*, *L. nobilis*, *O. basilicum* имеют антирадикальную активность. Наибольшая радикал-ингибирующая активность выявлена в экстракте *L. nobilis*, самая низкая - в экстракте *O. basilicum*.
2. Во всех исследованных экстрактах обнаружено высокое содержание флавоноидов, однако антирадикальная активность экстрактов не коррелирует с общим количеством флавоноидов в них.
3. Введение этанольного экстракта *L. nobilis* приводит к 100%-ой выживаемости крыс, которым вводили летальную дозу СС14.
4. Экстракт *L. nobilis* способствует снижению уровней аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, γ -глутамилтрансферазы, альбумина и билирубина в плазме крови крыс при токсическом повреждении СС14.
5. Этанольный экстракт *L. nobilis* стабилизирует такие биохимические показатели как: глюкоза, холестерин, триглицериды, мочевины.
6. Выявлена положительная корреляция между содержанием кверцетина и морина с антирадикальной и антибактериальной активностью.
7. Экстракт *L. nobilis* обладает выраженной гепатопротекторной активностью и ангиопротекторным действием.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Vardapetyan H., Hovhannisyanyan D., Rukhkyan M., Gasparyan G. Comparative analysis of flavonoid content and *in vitro* antiradical activity of *Laurus nobilis* leaves extracts from different regions of South Caucasus // Вестник РАУ, № 2, с. 63-66, 2011.
2. Hovhannisyanyan D., Rukhkyan M., Gasparyan G., Zagorski K. Free radical scavenging activity, flavonoid content and antibacterial activity of some herbs grown in Armenia // Устные доклады международной научной конференции "Ломоносов", Москва, с. 231, 2012.
3. Hovhannisyanyan D., Gasparyan G. In vivo investigation of quercetin antitoxic activity against Armenian *M. lebetina obtusa* venom // Сборник материалов международного аспирантского форума "Современная наука: тенденции и развития, проблемы и перспективы" Ереван, с. 62-64, 2013.
4. Hovhannisyanyan D., Tiratsuyanyan S., Gasparyan G., Voskanyanyan A., Vardapetyan H. Antihemorrhagic activity of quercetin against *Macrovipera lebetina obtusa* venom // Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, v. 2, issue 2, pp. 165-170, 2014.
5. Gasparyan G., Tiratsuyanyan S., Kazaryanyan Sh., Vardapetyan H. Effect of *Laurus nobilis* extract on the functioning of liver against CCl₄ induced toxicity // Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences, v. 3, issue 2, pp. 174-183, 2015.
6. Гаспарян Г. Влияние экстракта листьев лавра благородного (*laurus nobilis*) на функционирование печени при токсическом повреждении индуцированном CCl₄ // Научно-практический журнал «ФАРМА», №10, с. 8-15, 2015.

Գասպարյան Գեորգ Գեղարյի

ԴԱՓՆՈՒ ԱԶՆՎԱԿԱՆԻ (*LAURUS NOBILIS*L.) ԷՔՍՏՐԱԿՏԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆՆ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ՖՈՒԼԿՑԻՈՆԱԼ ԿԱՐԳԱՎԻՃԱԿԻ ԵՎ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱԿԱՆ ՑՈՒՑԱՆԻՇՆԵՐԻ ՎՐԱ ՏԵՏՐԱՔԼՈՐԱԾԽԱԾՆՈՎ ԻՆՏՈՔՍԻԿԱՑՄԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Հանգուցային բառեր՝ հակաօքսիդանտ, քվերցետին, մորին, ֆլավոնոիդներ, COX, CCL4, հեպատոցիտ:

Ֆլավոնոիդները բուսական ծագման երկրորդային մետաբոլիտներ են, որոնք հանդիսանում են ցածրամոլեկուլյային պոլիֆենոլներ: Նրանք օժտված են կենսաբանական բարձր ակտիվության լայն սպեկտրով, ցուցաբերում են իմունամոդուլացնող, հակաբորբոքային, հակաաթմատիկ, հակաուռուցքային և այլ ակտիվություններ: Ֆենոլային միացությունների ազդեցության հիմքում ընկած են նրանց հակաօքսիդանտային հատկությունները:

Ատենախոտական աշխատանքի նպատակն է եղել ուսումնասիրել մի շարք դեղաբույսերի՝ *P. major*-ի, *L. nobilis*-ի, *O. basilicum*-ի էքստրակտների հակաօքսիդանտային և հեպատոպաշտպանիչ ակտիվությունը՝ CCL4-ի բջջատոտոքսիկ ազդեցության պայմաններում, հեպատոցիտների վնասման հյուսվածքաձևաբանական և հիմնական կենսաքիմիական ցուցանիշների միաժամանակյա ուսումնասիրությամբ, հեպատոցիտների վնասվածության կենսաքիմիական ցուցանիշների վերլուծության հիման վրա: Դիտարկվել են նրանց ազդեցության մեխանիզմները, ինչպես նաև բացահայտվել են տարբեր էթիոլոգիայով հեպատիտների կանխարգելման, բուժման համար նրանց կիրառման հնարավորությունները:

Ֆլավոնոիդների ամենաբարձր քանակությունը հայտնաբերվել է *O. basilicum*-ի (27,2 մգ/մլ), իսկ ամենացածրը՝ *P. major*-ի (10,9 մգ/մլ) էքստրակտի մեջ, չնայած հետազոտված էքստրակտներից ամենաբարձր հակաառադիկալային ակտիվությամբ օժտված է *L. nobilis*-ինը, իսկ ամենացածրը՝ *O. basilicum*-ինը: Ստացված արդյունքների համաձայն բոլոր երեք էքստրակտները պարունակում են քվերցետին և մորին: Կարևորվում է այն փաստը, որ մորինի և քվերցետինի քանակը էքստրակտներում կորելացվում են հակաբակտերիալ և հակաառադիկալային ակտիվությունների հետ, համապատասխանաբար:

in vivo փորձերի արդյունքում պարզվել է, որ ստուգիչ կենդանիների համեմատ *L. nobilis*-ի, *O. basilicum*-ի, *P. major*-ի էքստրակտների և CCL4-ի միաժամանակյա ազդեցությամբ դիտվում է փորձարարական առնետների կյանքի տևողությունը ավելացում է 480, 96 և 48 ժամ-ով, համապատասխանաբար:

Փորձերի արդյունքներից պարզ դարձավ, որ փորձարարական առնետներին CCL4-ի ներորովայնային ներարկման դեպքում արյան պլազմայի մեջ ավելանում են հեպատոցիտների և երիկամների վնասվածության կենսաքիմիական հիմնական ցուցանիշների՝ ասպարտատամինատրանսֆերազի (ԱՍՏ), ալանինամինատրանսֆերազի (ԱԼՏ), հիմնային ֆոսֆատազի (ՖՖ) և γ -գլյուտամիլտրանսֆերազի (ԳԳՏ)

քանակները համապատասխանաբար 1.6, 2.1, 1.7 և 1.5 անգամ ստուգիչի նկատմամբ: *L.nobilis*-ի էքստրակտի և CCl₄-ի համատեղ ներարկման դեպքում արյան պլազմայում դիտվում է ԱՍՏ -ի, ԱԼՏ -ի, ՀՖ-ի և ԳԳՏ-ի քանակների նվազում 21%, 30%, 68% և 35%-ով, համապատասխանաբար, համեմատած միայն CCl₄ ներարկված կենդանիների հետ: Ստացված արդյունքները վկայում են *L.nobilis*-ի հեպատոցիտների և երիկամների բջիջների պաշտպանիչ ակտիվության մասին:

Առնետների լյարդի ֆունկցիոնալ վիճակը գնահատվել է միկրոլուսանկարների վրա «մուգ» շերտերի մակերեսների չափման, ինչպես նաև դե Բիտեսի գործակցի (շիճուկային ԱՍՏ-ի և ԱԼՏ-ի ակտիվությունների հարաբերությունը) որոշման եղանակներով: Ստացված արդյունքները նույնպես ցույց են տալիս *L.nobilis*-ի էքստրակտի հեպատոպաշտպանիչ ակտիվության մասին CCl₄-ի ինտոքսիկացիայի դեպքում:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ *L.nobilis*-ի և CCl₄-ի համատեղ ներարկման դեպքում նվազում է CCl₄-ի հետևանքով առաջացած հեմորոգիկ և հեպատոտոքսիկ վնասվածքի տարածքը 47%-ով: Տվյալները վկայում են այն մասին, որ *L.nobilis*-ի էքստրակտը ունի արտահայտված հակահեմորոգիկ և հեպատոպաշտպանիչ ակտիվություն CCl₄-ի տոքսիկ ազդեցության նկատմամբ:

Հիմնվելով ստացված արդյունքների և համապատասխան գրական տվյալների վրա, մեր կողմից առաջարկվել է ուսումնասիրված դեղաբույսերի էքստրակտների հակատոքսիկ ակտիվության ազդեցության հնարավոր մեխանիզմների գծապատկեր, ըստ որի *L.nobilis*-ի էթանոլային էքստրակտը ցուցաբերում է հակառադիկալային, COX-1-ի ակտիվությունը խցանող, իսկ COX-2-ինը՝ խթանող, ինչպես նաև էնդոթելային բջիջների թաղանթների կայունացնող ազդեցություններ:

SWEET BAY (*L. NOBILIS*L) EXTRACT EFFECT ON RAT LIVER FUNCTIONAL STATUS AND BIOCHEMICAL INDICATORS AT THE TIME OF CARBON TETRACHLORIDE INTOXICATION

EXECUTIVE SUMMARY

Key word: antioxidant, quercetin, maureen, flavonoids, COX, CCl₄, hepatocyte

Flavonoids are plant secondary compounds, that represent a low-molecular polyphenols. They are endowed with high biological broad spectrum activity, demonstrating immune modeling, anti-inflammatory, anti- asthma, cancer and other activities. The impact of phenolic compounds is based on their antioxidant features.

This thesis was aimed at exploring a variety of herbs, such as *P. major*, *L. nobilis*, *O. basilicum* extracts antioxidant activity and hepatoprotective activity, in the conditions of CCl₄ cytotoxic environment, based on hepatocyte damage tissue morphological and biochemical indices simultaneous study and hepatocyte damage biochemical analysis.

The mechanisms of their impact have been observed, also the chance of their usage for prevention and treatment of various hepatitis was exposed. The highest amount of flavonoids has been found in *O. basilicum*- (27.2 mcg / ml), the lowest in *P. major*'s (10.9 mcg / ml) extract, despite among the studied extracts the highest anti-radical activity has *L.nobilis*, the lowest *O. basilicum*. Due to results, all three extracts contain quercetin,

Maureen. Of great importance is the fact that the amount of quercetin Maureen in extracts are correlated with antibacterial and anti-radical activity, respectively.

Due to *in vivo* experiments, we came to the conclusion, that compared with the control animals under the impact of *L.nobilis*, *O. basilicum*, *P. major* extracts and CCl₄ simultaneous effect one may see the increase in life duration of experimental rats for 480, 96 and 48 hours, respectively. Test results showed that in case of abdominal CCl₄ injection of the experimental rats, in blood plasma we may observe the increase of hepatocyte and biochemical key indicators of kidney damage, aspartate aminotransferase AST, alaninaminotransferaza ALT, Basic fosfataz and γ -glyutamyltransferaz amount, respectively related to verifier. In case of *L.nobilis*- extract and CCl₄ injection, in blood plasma one may see AST ALT, Basic fosfataz glyutamyltransferaz decrease in 21%, 30%, 68% and 35%, respectively, compared with only CCl₄ injected animals. The results show the hepatocyte cells and kidney protective activity.

Rat liver functional condition has been evaluated due to micro photos "dark" layers measuring, as well as due to De – Ritis ratio determination methods (serum ALT and AST activities relation). The results also show *L.nobilis* extract hepato- protective activity in case of CCl₄ intoxication. The results show that in case of *L.nobilis*- and CCl₄ injection, there is a decrease in hemorrhagic and hepato-toxic injury area in 47%. The results show, that *L.nobilis* extract has expressed anti- hemorrhagic and hepato- protective activity, related to CCl₄ toxic effects.

Based on the results and the appropriate literature data, we have suggested possible mechanisms figure of antitoxic activity impact of studied herbal extracts, due to which ethanol extract shows anti-radical, COX-1 activity blocking, and in case of COX-2 shows stimulating, as well as stabilization effects of endothelial cell membrane.

