**Абекова Асима Оспановна**

6D070100 – «Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін **« Жаңа дәрілік заттарды өңдеу үшін иод координациялық қосылысының белсенділігін ісікке қарсы зерттеу»** тақырыбында дайындалған диссертациясының

# АҢДАТПАСЫ


**Диссертациялық жұмыстың жалпы сипаттамасы:** Диссертация ісікке қарсы белсенділігі бар жаңа иод координациялық қосылысы - дилитий (I) (1→4)-L-D- полиглюкопиран трииодид хлориді, полипептид (бұдан әрі КС-144) фармацевтикалық, биологиялық және фармакологиялық қасиеттерін зерттеуге арналған.

**Зерттеудің өзектілігі**

Қатерлі ісік әлем бойынша өлім-жітімнің негізгі себептерінің бірі саналады және қазіргі медицинаның ең өзекті мәселелерінің қатарына жатады. Химиотерапия, таргеттік терапия және иммунотерапия салаларындағы елеулі жетістіктерге қарамастан, көптеген қатерлі ісіктерді емдеудің тиімділігі әлі де жүйелік уыттылықпен, ісіктердің айқын гетерогенділігімен және дәрілік төзімділіктің дамуымен шектеледі. Осыған байланысты терапияға ісік жасушаларының сезімталдығын арттыруға және қолданылатын ісікке қарсы препараттарға төзімділікті еңсеруге қабілетті, баламалы әсер ету механизмдеріне ие жаңа ісікке қарсы қосылыстарды іздеу қажеттілігі сақталуда.

Қазіргі заманғы фармацевтикалық химияның перспективалы салаларының бірі - дәрілік төзімділігі қалыптасқан ісік жасушаларының қолданыстағы терапияларға сезімталдығын арттыруға немесе қайта қалпына келтіруге мүмкіндік беретін, уыттылығы төмен ісікке қарсы жаңа агенттерді әзірлеу болып табылады. Осындай тәсілдердің бірі қатерлі ісік жасушаларындағы апоптоздық өлімді қайта белсендіруді қамтуы мүмкін. Апоптозды белсендіретін заттардың қатарына иод және оның туындыларын жатқызуға болады. Соңғы жылдары иодтың әртүрлі химиялық формаларының ісікке қарсы әсерлері туралы мәліметтер жинақталды, оның ішінде олардың антипролиферативті және проапоптоздық әсерлері де қамтылған. Иод және құрамында иод бар жүйелер митохондриялық процестердің, тотығу стрессінің және жасушалық өлімге қатысатын сигналдық жолдардың модуляциясымен байланысты болуы мүмкін екендігі көрсетілді, бұл оларды ісікке қарсы терапия үшін перспективалы нысандар ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

Дегенмен, бос молекулалық иодты терапиялық мақсатта қолдану оның жоғары химиялық реакциялық қабілетіне, тұрақсыздығына және бақыланатын түрде жеткізудегі қиындықтарға байланысты шектеледі. Бұл құрамында иод бар неғұрлым тұрақты және фармацевтикалық тұрғыдан басқарылатын жүйелерді әзірлеу қажеттілігін негіздейді. Ерекше перспективалы тәсілдердің бірі – белсенді компонентті тұрақтандыруға және оның физика-химиялық,

сәйкесінше биологиялық қасиеттерін модификациялауға қабілетті полимерлік және биоорганикалық лигандтар негізіндегі иод координациялық қосылыстарын құру болып табылады. Полимерлік иодофорлар мен басқа да кешенді иодқұрамды жүйелерде кешентүзілу үдерісі иодтың сақталуына ықпал ететінін, оның босап шығу ерекшеліктеріне әсер ететіні және бос иодпен салыстырғанда жүйенің тұрақтылығын арттыратыны көрсетілген.

Мұндай қосылыстардың әсер ету механизмдері классикалық цитостатикалық препараттардың әсер ету механизмдерінен ерекшеленуі мүмкін. Атап айтқанда, олар тотығу-тотықсыздану гомеостазына, митохондриялардың қызметіне, жасушалық циклдің реттелуіне және бағдарламаланған жасушалық өлім үдерістеріне ықпал етуі мүмкін. Сондықтан, иод негізіндегі жаңа координациялық жүйелерді іздеу және әзірлеу фармацевтикалық химия мен эксперименттік онкология салаларындағы өзекті ғылыми міндеттердің бірі болып табылады.

Осы диссертациялық жұмыста зерттеу нысаны ретінде ісікке қарсы перспективалы агент болып табылатын жаңа иод координациялық қосылысы – КС-144 қарастырылды. Зерттеудің мақсаты оның физика-химиялық, биологиялық және фармакологиялық қасиеттерін зерттеу, *in vitro* және *in vivo* жағдайларындағы ісікке қарсы белсенділігін бағалау, сондай-ақ әсер етуінің молекулалық және жасушалық механизмдерін талдау болды. Ерекше назар КС-144 қосылысының ісік жасушаларының өміршеңдігіне, жасушалық циклге, митохондриялық мембрана потенциалына, тотығу күйіне және апоптоздың индукциясына әсерін зерттеуге аударылды. Сонымен қатар, жұмыста КС-144 қосылысының белгілі ісікке қарсы препараттармен біріктірілген әсері қарастырылды, бұл терапия тиімділігін арттыру және дәрілік төзімділікті еңсерудің заманауи стратегиялары тұрғысынан маңызды болып табылады.

Осылайша, ісікке қарсы белсенділігі бар жаңа иод координациялық қосылысын әзірлеу және оның физика-химиялық, фармацевтикалық және биологиялық қасиеттерін кешенді зерттеу ғылыми тұрғыдан негізделген әрі уақыт талабына сай өзекті ғылыми міндет болып табылады.

Алынған нәтижелер әсер ету механизмі жаңа болуы ықтимал отандық ісікке қарсы дәрілік затты одан әрі клиникаға дейінгі әзірлеуге ғылыми негіз бола алады.

**Зерттеу нысаны:** Ісікке қарсы белсенділікке ие биополимерлер негізіндегі иодтың координациялық қосылысы. Американдық типтегі дақылдар коллекциясынан (ATCC, Манассас, АҚШ) алынған қалыпты және ісік жасушаларының дақылдары. Егеуқұйрық аналық безінің трансплантацияланатын аффиндік ісігі (карциномасы) (АфОЯ) (Қазақ онкология және радиология ғылыми-зерттеу институты). ATCC және NBRC микроорганизмдерінің тест-штамдары, сондай-ақ Wistar желісіндегі зертханалық егеуқұйрықтар.

**Зерттеу мақсаты:** Жаңа дилитий (I) (1→4)-L-D-полиглюкопиран трииодид хлориді, полипептид кешенінің физика-химиялық қасиеттерін, биологиялық белсенділігін зерттеу және оның ісікке қарсы әлеуетін бағалау.

**Зерттеу міндеттері:**

1. Жаңа иод координациялық қосылысын алу және оның физика-химиялық қасиеттерін зерттеу.
2. Иод координациялық қосылыстың әртүрлі ісік жасушалары желілеріндегі биологиялық белсенділігін зерттеу.
3. Иод координациялық қосылысының белгілі ісікке қарсы препараттармен әртүрлі ісік жасушалары желілеріндегі біріктірілген әсерін зерттеу.
4. Иод координациялық қосылысының ісікке қарсы белсенділігінің молекулалық-жасушалық механизмдерін зерттеу.
5. Иод координациялық қосылысының *in vitro* генотоксикалығын бағалау.
6. Иодты координациялық қосылысты ісікке қарсы препаратпен біріктіріп қолданудың *in vivo* тиімділігін трансплантацияланатын ісіктің эксперименттік моделінде зерттеу.

**Зерттеу әдістері:** Зерттеу барысында заманауи физика-химиялық, фармацевтикалық, биологиялық, микробиологиялық және фармакологиялық әдістер кешені қолданылды. Иод координациялық қосылысын сипаттау үшін *in silico* кванттық-химиялық модельдеу, синтездеу және фармацевтикалық сапа көрсеткіштерін бағалау әдістері, ультракүлгін, инфрақызыл және Раман-спектроскопиясы, сондай-ақ тұрақтылықты зерттеу әдістері пайдаланылды.

Заттың *in vitro* биологиялық белсенділігі жасушаларды өсіру, жасушалардың өміршеңдігін, пролиферативтік және цитоуытты белсенділігін анықтау, апоптозды талдау, колония түзу қабілетін бағалау, жасушалық циклді зерттеу, TUNEL әдісімен ДНҚ фрагментациясын анықтау, митохондриялық мембраналық потенциалды бағалау, тотығу стрессін зерттеу, микроядролық тест, вестерн-блоттинг, ағынды цитометрия, электрофорез, флуоресценттік және жарық микроскопия әдістері арқылы бағаланды.

Геноуыттылықты зерттеу барысында қайта себінділеу, реактивациялау, криоконсервациялау және бактериялық мутагендік белсенділікті бағалау әдістері қолданылды.

*In vivo* зерттеулер КС-144-тың егеуқұйрықтардағы жедел уыттылығы мен ісікке қарсы тиімділігін бағалауды қамтыды; жануарлардың өміршеңдігі Каплан–Мейер әдісімен талданып, топтар арасындағы айырмашылықтар log-rank тесті арқылы бағаланды.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы.** Ғылыми диссертациялық зерттеу барысында ісікке қарсы белсенділікке ие жаңа КС-144 иод координациялық қосылысының физика-химиялық, фармацевтикалық, биологиялық және фармакологиялық қасиеттерін сипаттайтын кешенді эксперименттік деректер алынды.

Алғаш рет жаңа биологиялық белсенді зат – дилитий (I) (1→4)-L-D-полиглюкопиран трииодид хлориді, полипептид (КС-144) алынып, оның физика-химиялық және жекелеген фармацевтикалық қасиеттері зерттелді.

Алғаш рет КС-144 қосылысының *in vitro* жағдайында әртүрлі ісік жасушалары желілеріне қатысты антипролиферативті және цитоуытты белсенділігі көрсетіліп, бұл қосылыстың әрі қарайғы фармакологиялық және клиникаға дейінгі зерттеулер үшін перспективалы қосылыс екендігі айқындалды.

Алғаш рет КС-144 қосылысының цисплатинге төзімді P31res1.2 мезотелиома желісін қоса алғанда, дәріге сезімтал және дәріге төзімді ісік жасушаларына қатысты биологиялық белсенділік көрсететіні дәлелденді. Бұл оның ісік жасушаларының дәрілік төзімділігін еңсеруге бағытталған жаңа тәсілдерді әзірлеудегі әлеуетті маңызын көрсетеді.

Алғаш рет КС-144 қосылысының сезімтал және төзімді ісік жасушаларында доксорубицин және цисплатин сияқты белгілі ісікке қарсы препараттардың әсерін күшейтетіні анықталды, бұл оның біріктірілген ісікке қарсы терапияда қолданылу мүмкіндігін кеңейтеді.

Алғаш рет КС-144 қосылысының ісікке қарсы әсері митохондриялық мембрана потенциалдың бұзылуы, белсенді оттегі түрлерінің түзілуінің артуы, жасушалық циклдің тоқтауы және апоптоздық жасушалық өлімнің индукциясы сияқты жасушаішілік және молекулалық механизмдер кешені арқылы жүзеге асатыны көрсетілді.

КС-144 қосылысының доксорубицинмен біріктірілген қолданылуының тиімділігі егеуқұйрықтардың трансплантацияланатын карцинома (АфОЯ) эксперименттік моделінде алдын ала бағаланып, жедел уыттылығы мен геноуыттылығы зерттелді. Алынған нәтижелер қосылыстың әрі қарай клиникаға дейінгі әзірлемелер үшін перспективалы екенін көрсетті.

Зерттеу нәтижелері негізінде Қазақстан Республикасының №35927 (28.10.2022 ж.) «Ісікке қарсы белсенділікке ие дилитий (I) (1→4)-L-D-полиглюкопиран трииодид хлориді, полипептид координациялық қосылысы» атты патенті алынды.

**Зерттеудің практикалық маңыздылығы** КС-144 дәрілік субстанциясын өндірудің технологиялық сызбасын әзірлеумен айқындалады, бұл тәжірибелік өндіріс регламентін әзірлеу үшін пайдаланылуы мүмкін. КС-144 субстанциясын стандарттау және оның негізгі сапа көрсеткіштерін анықтау дәрілік формаларды одан әрі фармацевтикалық тұрғыдан әзірлеуге негіз қалайды. Зерттеу нәтижелері НЦПП тәжірибелік өндірістік нысанының практикалық жұмысына енгізіліп, тиісті енгізу актісімен расталады. КС-144 фармакологиялық тиімділігі мен уыттылығы туралы алынған деректерді кейінгі доклиникалық зерттеулерді жоспарлау кезінде пайдалануға болады. Зерттеу нәтижелері КС-144-ты біріктірілген ісікке қарсы терапия құрамында қолданылуы ықтимал дәрілік субстанция ретінде одан әрі фармацевтикалық әзірлеу мен клиникаға дейінгі сынақтарда пайдалануға негіз болады.

**Зерттеудің теориялық маңыздылығы** иодтың координациялық қосылысының химиялық құрылымы мен оның физика-химиялық қасиеттері, тұрақтылығы, биологиялық белсенділігі және ісікке қарсы әсер ету механизмдері арасындағы өзара байланысты түсінуді кеңейтумен сипатталады. Алынған нәтижелер полииодидті координациялық қосылыстардың биологиялық белсенділігі туралы ғылыми түсініктерді толықтырады және КС-144-ты біріктірілген ісікке қарсы терапияның әлеуетті компоненті ретінде одан әрі зерттеудің перспективалылығын негіздейді.

**Қорғауға ұсынылған диссертацияның негізгі қағидалары:**

1. Полипептидтер мен декстрин негізіндегі КС-144 жаңа иод координациялық қосылысы әзірленіп, алынды. Оның негізгі физика-химиялық қасиеттері мен спектрлік сипаттамалары анықталды; алынған деректер иодидтік, трииодидтік және полииодидтік формалардың болуымен және олардың полисахаридті-пептидтік матрица арқылы тұрақтандырылуымен үйлеседі.
2. КС-144 субстанциясы иод иісі бар қоңыр-күлгін түсті ұнтақ түрінде болады, суда жақсы ериді, 25 ± 2 °С температурада және 60 ± 5 % салыстырмалы ылғалдылық жағдайында тұрақтылығын сақтайды және жаңа фармацевтикалық дәрілік формаларды әзірлеуде қолданылуы мүмкін.
3. Мезотелиоманың P31 және P31res1.2 жасушалары қалыпты мезотелиальды МеТ-5А жасушаларымен салыстырғанда КС-144 әсеріне анағұрлым сезімтал екендігі көрсетілді ($ЦТК_{50}$ сәйкесінше 0,306 және 0,465 мг/мл; МеТ-5А жасушалары үшін $ЦТК_{50}$ – 1,30 мг/мл). Бұл КС-144 қосылысының ісіктік мезотелиальды жасушаларға қатысты орташа селективтілікке ие екенін көрсетеді.
4. КС-144 қосылысының цисплатинмен және доксорубицинмен біріктіріп қолданғанда ісік жасушаларына қатысты әсерін күшейтетіні анықталды. КС-144 пен доксорубициннің синергиялық әсері K562 жасушаларында, ал КС-144 пен цисплатиннің синергиялық әсері мезотелиоманың P31 және P31res1.2 жасушаларында байқалды. Антагонизмнің болмауы КС-144 қосылысын зерттелген препараттармен бірге қолданудың қауіпсіздігін растайды. Клоногендік талдау резистенттіліктің дамымауын және ісік жасушаларының пролиферативті әлеуетін ұзақ уақыт бойы тежеу мүмкіндігін көрсетті.
5. КС-144 қосылысының 0,125–0,25 мг/мл концентрациялар аралығындағы ісікке қарсы белсенділігі үш ықтимал механизммен байланысты екендігі көрсетілді: митохондриялық мембрана потенциалдың төмендеуі, белсенді оттегі түрлерінің түзілуінің артуы және интерфазаның пресинтетикалық кезеңінде жасушалық циклдің тоқтауымен және $G_0/G_1$ фазасына өтуімен қатар жүретін апоптоз индукциясы.
6. *In vitro* геноуыттылықты бағалау барысында Эймс тестінде және L5178Y тышқан лимфомасы жасушаларындағы микроядролық талдауда КС-144 субстанциясы мутагендік әлеует көрсетпеді.

7. Егеуқұйрықтарда пероральды енгізу кезінде жүргізілген жедел уыттылық зерттеулерінің нәтижелері бойынша КС-144 қосылысының орташа өлімге әкелетін дозасы ($ЛД_{50}$) 4000 мг/кг-нан жоғары екендігі анықталды.
8. КС-144 400 мг/кг дозада доксорубицинмен біріктіріп қолдану егеуқұйрық аналық безінің аффинитетті карциномасы моделінде егеуқұйрықтардың өмір сүру ұзақтығын 64%-ға арттырады.

Диссертацияда қойылған барлық міндеттер толық көлемде орындалды.

**Негізгі ғылыми жұмыстың жоспарымен байланысы.** Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасы Индустрия және инфрақұрылымды дамыту министрлігінің «2015-2017 және 2018-2020 жылдарға арналған жаңа инфекцияға қарсы препараттарды әзірлеу» ғылыми-техникалық бағдарламасының мақсаттары аясында орындалды (бағдарламаның тіркеу нөмірі № О.0777).

**Докторанттың әрбір** жарияланымды **дайындауға қосқан жеке үлесі:** ғылыми әдебиеттерге шолу жасау, эксперименттерді жоспарлау және жүргізу, алынған деректерді жинақтауды, оларды интерпретациялау мен статистикалық өңдеуді, сондай-ақ зерттеу нәтижелерін сипаттап, оларды талқылауды қамтиды.

**Ғылыми-зерттеу жұмысының апробациясы.** Диссертация материалдары халықаралық ғылыми конференцияларда, конгресстерде, форумдарда және дөңгелек үстелдерде баяндалып, талқыланды: IV Халықаралық Фараби оқуларында, Қазақстан (2017); Astana Biotech халықаралық симпозиумы (2018); VI Халықаралық Фараби оқуларында (04/2019); International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM (2020); «FARABI ALEMI» студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық конференциясы (2023); International Scientific Conference of Young Scientists dedicated to the 40th anniversary of the founding of M.A. Aitkhozhin Institute of Molecular Biology and Biochemistry (2023); BIO Web of Conferences 100, 03001 (2024).

**Жарияланымдар.** Диссертациялық зерттеу нәтижелері бойынша 16 ғылыми жұмыс жарияланып, Қазақстан Республикасының өнертабысына 1 патент алынды, оның ішінде: Scopus дерекқорында индекстелетін халықаралық рецензияланатын ғылыми басылымдарда 2 мақала; ҚР ҒжЖБМ ЖБССҚЕК тізіміне енген журналдарда 3 мақала; шетелдік рецензияланатын журналда 1 мақала; халықаралық ұжымдық монографияда 1 тарау;сондай-ақ халықаралық ғылыми конференциялар материалдарында жарияланған 9 тезис бар.