АҢДАТПА

«8D05101 – Биология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін диссертация

Айтынова Арайлым Елдосқызы

Түйежапырақ киіз (*Arctium tomentosum* Mill.) фитопрепаратының биологиялық белсенділігін зерттеу

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертация *Arctium tomentosum* Mill тамырынан алынған CO_2-экстрактының *in vitro* және *in vivo* жағдайларындағы биологиялық белсенділігін зерттеуге арналған.

Диссертация тақырыбының өзектілігі.

Дәрілік өсімдіктер фармакотерапия үшін негізгі ресурс болып қала береді. *Asteraceae* тұқымдасына жататын *Arctium lappa* L. (Ірі лопух) ерекше қызығушылық тудырады. Оның тамыры дәстүрлі түрде дерматологиялық, асқазан-ішек жолдарының және гепатобилиарлық ауруларды емдеу үшін сығындылар түрінде қолданылады. Дуңғақ емдік профилі оның құрамындағы биологиялық белсенді қосылыстардың (ББҚ) жоғары концентрациясына байланысты: фенол қышқылдары (әсіресе хлорогендік және кофеин қышқылдары), флавоноидтар (кверцетин, рутин, лютеолин және апигенин) және спецификалық лигнандар (арктиин және арктигенин). Бұл қосылыстар кешені өсімдіктің антиоксидантты, қабынуға қарсы, гепатопротекторлық, ісікке қарсы және бактерияға қарсы әсерлерін қоса алғанда, фармакологиялық тиімділігінің кең спектрін анықтайды.

A. lappa туралы деректердің айтарлықтай көптігіне қарамастан, *Arctium* туысының басқа түрлері әлі де толық зерттелмеген, бұл осы таксонның хеможүйелі және фармакологиялық әртүрлілігін түсінуімізді шектейді. Осыған байланысты, *Arctium tomentosum* Mill. табиғи экожүйелерде кең таралған және жоғары экологиялық бейімделушілікпен және шикізаттың қолжетімділігімен сипатталатындықтан, ерекше қызығушылық тудырады. Бұл тікенек түрінің фитохимиялық профилі мен биологиялық белсенділігі туралы деректердің үзінділі сипаты оны кешенді зерттеуді, әсіресе гепатобилиарлық патологияларды емдеуге қатысты зерттеуді негіздейді, олардың жиілігі қазіргі уақытта бірқатар себептерге байланысты артып келеді.

Бауыр ауруының өсуі мультифакторлы этиологияға байланысты: уытты гепатопатиядан метаболизммен байланысты майлы бауыр ауруына дейін. Бауыр дисфункциясы көмірсулар мен липидтер алмасуының бұзылуымен бірге жүйелік реакциялар каскадын бастайды: гипергликемия, дислипидемия және инсулинге төзімділік, метаболикалық бұзылулардың қатал циклін тудырады. Бұл процестер 2 типті қант диабеті мен жүрек-қан тамырлары асқынуларының даму қаупімен тығыз байланысты. Орган деңгейінде триглицеридтердің жиналуы және липидтердің асқын тотығуының белсендірілуі стеатоздың стеатогепатитке айналуына әкеледі. Тиісті фармакотерапия болмаған жағдайда созылмалы қабыну фиброгенезді ынталандырады, онда функционалды тін дәнекер тінмен алмастырылады, бұл сөзсіз циррозға дейін дамиды.

Классикалық шөптік гепатопротекторлардың, әсіресе силимарин, цинарин, глицирризиндер және куркуминге негізделгендердің кеңінен қолданылуына қарамастан, бауырдың күрделі метаболикалық бұзылыстарын түзету мәселесі шешілмеген күйінде қалып отыр. Жүйелік метаболикалық бұзылулардың толық спектрін жиі шеше алмайтын қолданыстағы агенттердің селективті сипаты, сондай-ақ ұзақ мерзімді жоғары дозалы терапиямен жағымсыз әсерлердің пайда болу қаупі – мысалы, холеретикалық гиперстимуляция (цинарин және куркумин үшін) немесе псевдогиперальдостеронизм (глицирризиндер үшін) – өндірістің жоғары ресурстарға тәуелділігімен және бірқатар енгізілген түрлер үшін жергілікті шикізат базасының болмауымен бірге, қолжетімді

отандық өсімдік материалдарына негізделген политропты әсері бар дәрілердің жиынтығын кеңейтуді қажет етеді.

Осыған байланысты, өзінің ерекше хемосистемалық профилімен *A. tomentosum*-ды күрделі әсер ету механизмі бар биологиялық белсенді қосылыстардың перспективалы көзі деп санауға болады деген болжам бар. Бұл түрді зерттеудің негіздемесі – субкритикалық CO_2-экстракциясы арқылы алынған липофильді кешеннің жоғары фармакологиялық құндылығы туралы гипотеза. Алынған сығындыдағы фенолдық қосылыстардың (фенолкарбон қышқылдары және флавоноид гликозидтері) мөлшері оның биологиялық белсенділігін анықтайды деп болжанады. *Arctium* түрлерінің фитохимиялық байланысы туралы әдеби деректер *A. tomentosum* CO_2-сығындысындағы полифенолдық компоненттердің синергетикалық әсері цитопротекцияны патологиялық бұзылулардың негізгі компоненттерін модуляциялаумен біріктіруге мүмкіндік беретінін көрсетеді.

Сокслет аппаратында мацерация, перколяция және экстракция процестерінде дәстүрлі экстрагенттерді (су, этанол және су-спирт қоспалары) қолдануға негізделген классикалық фармацевтикалық технологиялардан айырмашылығы, бұл зерттеуде көмірқышқыл газын (ГОСТ 8050-85) пайдалана отырып, субкритикалық экстракция әдісі қолданылды. Бұл тәсіл «жасыл» технологиялар санатына жатады, өйткені ол термиялық булану сатысын жояды, процестің экологиялық қауіпсіздігін және термолабильді биологиялық белсенді қосылыстардың табиғи сақталуын қамтамасыз етеді. Экстракцияның соңғы кезеңінде газды толық декомпрессиялау соңғы өнімде экстрагенттің іздік мөлшерін болмауын қамтамасыз етеді, оның тазалығы мен экологиялық қауіпсіздігін қамтамасыз етеді.

Жоғарыда айтылғандарды қорытындылайтын болсақ, зерттеу объектісі ретінде *A. tomentosum* таңдауы оның Қазақстан Республикасындағы шикізат базасының жоғары биожетімділігі фонында жеткіліксіз зерттелуімен байланысты. Бұл түрдің екінші реттік метаболиттерінің синергетикалық сипаты және субкритикалық CO_2-экстракциясының технологиялық артықшылықтары бірегей, отандық өндірістегі, көп мақсатты шөптік өнім жасауға мүмкіндік береді. Бұл шөптік өнімнің биологиялық белсенділігін, соның ішінде метаболикалық бұзылулар мен бауыр уыттылығының патогенезіндегі қауіпсіздігі мен тиімділігін зерттеу импортты алмастыратын фармацевтикалық өндірісті дамыту үшін стратегиялық маңызы бар өзекті мәселе болып табылады.

Жұмыстың мақсаты: *Arctium tomentosum* Mill тамырынан алынған фитопрепаратының биологиялық белсенділігін *in vitro* және *in vivo* зерттеу.

Зерттеу міндеттері:

1. Жалпы флавоноидтар мен фенол қышқылдарының мөлшерін анықтау үшін, CO_2-экстракциясы арқылы алынған *Arctium tomentosum* Mill. тамырынан алынған фитопрепаратының полифенолды құрамын анықтауы және оның DPPH және FRAP антиоксиданттық әлеуетін бағалау;
2. Зерттелген фитопрепараттың МТТ-сынағында мононуклеарлы жасушаларының дақылына цитотоксикалық әсерін зерттеу;
3. Грам-оң бактериялардың *(Staphylococcus aureus),* грам-теріс бактериялардың *(Escherichia coli)* және ашытқы тәрізді саңырауқұлақтардың *(Candida albicans)* эталондық штаммдарындағы фитопрепараттың микробқа қарсы белсенділігін бағалау;
4. Жедел және жеделдеу кезеңіндегі тәжірибелерде тышқандардың дене салмағы мен ішкі ағзаларының индекстерін, гематологиялық және биохимиялық қан көрсеткіштерін, сондай-ақ висцеральды мүшелерінің гистоқұрылымын зерттеу;
5. Көмірсуларға бай диетадан туындаған метаболикалық синдромдағы фитопрепараттың тиімділігін зерттеуде тышқандардың морфофункционалды жағдайын, соның ішінде дене салмағы мен органометриялық мәндерін, қан сарысуының биохимиялық параметрлерін, инсулинге төзімділік индексін және бауырдың гистоқұрылымын бағалау;

6. Тышқандардағы CCl_4-индукцияланған гепатоуыттылық моделінде сарысу биохимиялық параметрлерін, липидтердің асқын тотығу маркерлерін, сондай-ақ бауырдың гистоқұрылымы мен морфометриясын зерттеу.

Зерттеу нысандары*:* *Arctium tomentosum* Mill тамырынан алынған CO_2-сығындысы («фитопрепарат», «ФТ»), перифериялық қанның мононуклеарлы жасушалары, грам-оң бактериялардың (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P), грам-теріс бактериялардың (*Escherichia coli* ATCC 11229) және ашытқы тәрізді саңырауқұлақтардың (*Candida albicans* ATCC 10231) эталондық штамдары, Swiss тышқандар.

Зерттеу тақырыбы: флавоноидтар мен фенол қышқылдарының жалпы мөлшері, зерттелетін фитопрепаратының полифенолды құрамы және оның бос радикалдарды бейтараптандыру қабілеті; фитопрепаратының *in vitro* биологиялық белсенділігі (жоғарыда аталған микроорганизмдердің эталондық штамдарына қарсы микробқа қарсы белсенділік және мононуклеарлы жасуша дақылындағы цитотоксикалық); фитопрепаратының *in vivo* биологиялық белсенділігі (тышқандардағы жедел және жеделдеу уыттылық; тышқандардағы көмірсуларға бай диетадан туындаған метаболикалық синдромдағы тиімділігі; тышқандардағы CCl_4-индукцияланған гепатоуыттылықтағы антиоксиданттық белсенділік және гепатопротекторлық әсер).

Зерттеу әдістері. Бұл диссертацияда келесі әдістер қолданылды: флавоноидтар мен фенол қышқылдарының жалпы мөлшерін анықтауға арналған спектрофотометриялық әдістер; полифенолды құрамды анықтауға арналған масс-спектрометриялық анықтауы бар жоғары өнімді сұйық хроматография; антиоксиданттық потенциалды бағалауға арналған DPPH және FRAP сынақ әдістері; перифериялық қанның мононуклеарлы жасушаларының тіршілікке қабілеттілігін бағалауға арналған MTT сынақ әдісі; микробқа қарсы белсенділікті бағалауға арналған екі еселенген сериялық сұйылту әдісі; гематологиялық, биохимиялық, гистологиялық, морфометриялық және статистикалық әдістер.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

1. Алғаш рет *Arctium tomentosum* Mill. тамырынан фитопрепарат CO_2-экстракциялау әдісін қолдану арқылы алынды, бұл биологиялық белсенді заттардың тез және жұмсақ экстракциясын қамтамасыз етеді. Флавоноидтар мен фенол қышқылдарының жалпы мөлшері анықталды, зерттеліп отырған фитопрепараттың полифенолды құрамы анықталды, сондай-ақ DPPH және FRAP сынақтарында бос радикалдарды бейтараптандыру қабілеті анықталды;
2. Алғаш рет, қанның мононуклеарлы жасушаларының *in vitro* тіршілік қабілетін бағалау арқылы MTT сынағының нәтижелеріне сүйене отырып, зерттелген фитопрепаратының цитотоксикалық әсерінің жоқтығы анықталды;
3. Алғаш рет грам-оң бактериялардың *(Staphylococcus aureus),* грам-теріс бактериялардың *(Escherichia coli)* және ашытқы тәрізді саңырауқұлақтардың *(Candida albicans)* анықтамалық штамдарында зерттелетін фитопрепараттың микробқа қарсы белсенділігі анықталды;
4. Тышқандардағы жедел және жеделдеу кезеңіндегі тәжірибелерде алғаш рет дене салмағы мен органометриялық параметрлерді кешенді бағалауды, қанның гематологиялық және биохимиялық параметрлерін және ішкі ағзалардың гистоқұрылымын морфологиялық талдауды қолдана отырып, зерттелген фитопрепараттың қауіпсіздігі дәлелденді;
5. Алғаш рет көмірсуларға бай диетадан туындаған метаболикалық синдром моделін және дене салмағы мен органометриялық параметрлерді бағалауды, қан сарысуының биохимиялық параметрлерін талдауды, сондай-ақ тышқандардың ішкі мүшелерінің гистоқұрылымын морфологиялық зерттеуді қамтитын кешенді тәсілді қолдана отырып, зерттелген фитопрепараттың тиімділігі дәлелденді және оның метаболикалық әсері белгіленді;
6. Алғаш рет антиоксиданттық белсенділікті кешенді бағалауға, қан сарысуының биохимиялық параметрлерін және бауыр ферменттерінің белсенділігін талдауға, сондай-ақ тышқандар бауырының гистоқұрылымын морфологиялық зерттеуге негізделген CCl_4-

индукцияланған гепатоуыттылық моделін қолдана отырып, *Arctium tomentosum* Mill тамырынан алынған фитопрепаратының антиоксиданттық және гепатопротекторлық әсері эксперименталды түрде расталды.

Диссертацияның ғылыми және практикалық маңыздылығы *Arctium tomentosum* Mill. CO_2-экстракциясы арқылы тамырынан алынған фитопрепаратының биологиялық белсенділігі туралы қазіргі түсінікті кеңейту және тереңдетуде жатыр. Алғаш рет кешенді *in vitro* және *in vivo* қауіпсіздігін бағалау нәтижелері, сондай-ақ антиоксиданттық, микробқа қарсы, метаболикалық және гепатопротекторлық белсенділік туралы деректер осы фитопрепаратының одан әрі фармакологиялық сипаттамасы үшін ғылыми негізделген негіз болып табылады. Алынған эксперименттік деректерді терапевтік дозалар мен енгізу режимдерін негіздеу, сондай-ақ осы фитопрепаратын метаболикалық және қабыну бұзылыстарын емдеуде практикалық қолдану әлеуетін бағалауға бағытталған клиникалық сынақтарды жоспарлау үшін пайдалануға болады.

Қорғалатын негізгі қағидалар:

1. CO_2-экстракциясы арқылы алынған *Arctium tomentosum* Mill. тамырынан алынған фитопрепаратының құрамында флавоноидтар мен фенол қышқылдарын қоса алғанда, полифенолды қосылыстар бар, бұл оның антиоксиданттық белсенділігін арттыруы мүмкін;
2. Зерттелетін фитопрепарат *in vitro* МТТөсынағында қанның мононуклеарлы жасушаларының дозаға тәуелді өміршеңдігін көрсетеді;
3. Фитопрепараттың грам-оң және грам-теріс бактериялар мен ашытқы тәрізді саңырауқұлақтарға қарсы микробқа қарсы белсенділігі бар екені көрсетілген;
4. Фитопрепарат қауіпсіз және жедел және жеделдеу эксперименттерде тышқандарға ішке қабылдаған кезде уыттылық белгілерін тудырмайды.
5. Көмірсуларға бай диетадан туындаған эксперименттік метаболикалық синдромда фитопрепарат инсулинді сенсибилизациялайтын әсер көрсетеді, бұл қан сарысуындағы глюкоза мен инсулин деңгейінің қалыпқа келуімен және липидтерді түзету әсерімен, бұл триглицеридтердің, жалпы холестериннің және төмен тығыздықтағы липопротеин деңгейінің төмендеуімен, сондай-ақ метаболикалық синдромы бар тышқандардың қан сарысуындағы жоғары тығыздықтағы липопротеин фракциясының қалпына келуімен дәлелденеді.
6. CCl_4-гепатоуыттылық моделінде фитопрепарат гепатопротекторлық әсерге ие, бұл тотығу стрессінің қарқындылығының төмендеуімен, бауыр маркер ферменттерінің белсенділігінің қалыпқа келуімен, майлы инфильтрацияның алдын алумен және бауыр гистоқұрылымының сақталуымен дәлелденеді.

Автордың жеке үлесі. Автор зерттеліп жатқан мәселе бойынша әдебиеттік деректерді талдап, барлық эксперименттік зерттеулерді, нәтижелерді статистикалық өңдеу мен талдауды өз бетінше жүргізді. Диссертацияның қолжазбасын жазу және жобалау жетекшілермен келісілген жоспарға сәйкес жүргізілді.

Зерттеу бағдарламасына қатысуы. Бұл диссертация бағдарламалық мақсатты гранттық қаржыландыру аясында жүзеге асырылды: ЖТН AP23484003 «Тері ауруларын емдеуге арналған жаңа отандық және экологиялық таза фармакологиялық заттарды әзірлеу».

Нәтижелерді мақұлдау. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері келесі халықаралық ғылыми конференцияларда жарияланып, талқыланды:

1. “Progress in Science” (Brussels, Belgium, December 15-16, 2022);
2. “Modern Trends in Sustainable Development of Biological Sciences” (Almaty, Kazakhstan, March 27-28, 2024).

Басылымдар. Диссертацияның негізгі нәтижелері 6 ғылыми мақалада жарияланды: Scopus дерекқорында 3 мақала (Q3, SJR – 0.296, процентиль – 52; Q3, SJR – 0.596, процентиль – 45; Q1, SJR – 0.865, процентиль – 87), КОКСОНВО ұсынған журналда 1 мақала, халықаралық конференция материалдарында 2 тезис (Q4, SJR – 0.205, процентиль – 26).

Жұмыстың құрылымы мен көлемі. Диссертация кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, зерттеу материалдары мен әдістерінен, зерттеу нәтижелерінен, нәтижелерді талқылаудан, қорытындыдан және пайдаланылған әдебиеттер тізімінен тұрады. Жұмыс 100 беттік баспа мәтінінде ұсынылған, 15 кестеден, 21 суреттен, 224 әдебиеттер тізімінен және 7 қосымшадан тұрады.

Алғыс білдіру. Автор осы жұмыс барысында көрсеткен мұқият және сынды басшылығы, құнды кеңестері үшін отандық кеңесші, биология ғылымдарының докторы, профессор Тамара Минажевна Шалахметоваға; шетелдік кеңесші, ветеринария ғылымдарының докторы, профессор Богдан Севастраға; және фармакология және токсикология зертханасының меңгерушісі, биология ғылымдарының кандидаты Наиля Ахтамовна Ибрагимоваға үлкен алғысын білдіреді.

Тәжірибелік база. Зерттеу «Инфекцияға қарсы дәрі-дәрмектердің ғылыми орталығы» АҚ фармакология және токсикология зертханасында (Алматы, Қазақстан); әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университетінің биоәртүрлілік және биоресурстар кафедрасында (Алматы, Қазақстан); Ауыл шаруашылығы ғылымдары және ветеринария медицинасы университетінің патофизиология кафедрасы (Клуж-Напока, Румыния); және Юлиу Хациегану атындағы медицина және фармация университетінің фармация факультетінде (Клуж-Напока, Румыния) жүргізілді.