АҢДАТПА

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

Амангельдинова Мадина Ерболқызы

Rheum cordatum Losinsk. негізіндегі жаңа полифенолдық кешеннің фармакологиялық қасиеттерін зерттеу

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Диссертациялық жұмыс *Rheum cordatum* Losinsk. негізінде алынған жаңа полифенольді кешеннің фармакологиялық қасиеттерін зерттеуге арналған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі.

Метаболизмнің бұзылуымен байланысты майлы бауыр ауруы қазіргі таңда тағамдық семіздік пен метаболикалық синдром пандемиясымен тығыз байланысты, бауырдың ең кең таралған созылмалы ауруларының бірі ретінде қарастырылады. Global Burden of Disease (GBD 2021) жобасының деректеріне сәйкес, 1990–2021 жылдар аралығында метаболикалық ассоциацияланған бауырдың май басуы ауруымен (МАЖБА) ауыратын науқастар саны 564,4 млн-нан 1,3 млрд адамға дейін артқан, ал оның әлем халқы арасындағы таралуы 10,6%-дан 16,1%-ға дейін өскен.

Аурушаңдықтың қарқынды өсуі тағамдық семіздік, қант диабеті және метаболикалық синдромның кең таралуымен байланысты, бұл алкогольсіз майлы бауыр ауруын (АМБА) қазіргі заманның маңызды медициналық-әлеуметтік мәселелерінің біріне айналдырады. Әлемдік ғылымның күш-жігеріне қарамастан, АМБА-ның фармакотерапиясы әлі де шектеулі күйде қалып отыр.

2024–2025 жылдары бауыр фиброзы мен гепатостеатозы бар науқастарда тиімділігін көрсеткен алғашқы препараттар – резметиром (THR-β агонисі) және семаглутид (GLP-1 агонисі) мақұлданды. Алайда бұл препараттар жоғары құнымен, қауіпсіздігін ұзақ мерзімді бақылау қажеттілігімен және тар бағытталған әсер ету механизмімен сипатталады. Бұрын қолданылған дәрілік заттар, соның ішінде Е витамині мен пиоглитазон тек науқастардың шектеулі санатына ұсынылады, ал урсодезоксихол қышқылы АМБА кезінде тиімділігін көрсетпеген. Осыған байланысты көп бағытты әсер ету механизмі бар және фармакологиялық уыттылығы төмен жаңа дәрілік агенттерді іздеу өзекті болып қала береді.

Бұл тұрғыда *Rheum* L. туысына жататын өсімдіктерден алынған полифенольді кешендер ерекше қызығушылық тудырады, өйткені олар антиоксиданттық, қабынуға қарсы және антимикробтық қасиеттерге ие. Бұл қасиеттер АМБА патогенезінде жетекші рөл атқаратын оксидативтік стресс, липоуыттылық, қабыну және ішек микробиотасының бұзылыстары жағдайында аса маңызды.

Rheum (Polygonaceae) туысы 60-тан астам түрді қамтиды және Қытай, Үндістан мен Орталық Азияның дәстүрлі медицинасында кеңінен қолданылған. Ең жақсы зерттелген түрлерге *R. palmatum*, *R. officinale*, *R. tanguticum* жатады, олар антрацен туындыларына, флавоноидтарға және фенол қышқылдарына бай. Ал Қазақстан аумағында өсетін *Rheum cordatum* Losinsk. биологиялық белсенді қосылыстардың жоғары әлеуетіне қарамастан, әлі де жеткіліксіз зерттелген.

Фармацевтикалық өндірістің экологиялық аспектісі де маңызды. Жасыл химияның негізгі қағидаларының бірі – қоршаған ортаға теріс әсерді азайту, соның ішінде органикалық еріткіштерді ұтымды пайдалану және кәдеге жарату болып табылады.

Дәстүрлі экстракция әдістері (гексан, ацетон, хлороформ қолдану) экологиялық және технологиялық тәуекелдермен сипатталады.

Сверхкритикалық көмірқышқыл газымен ($ScCO_2$) экстракциялау жоғары тазалықтағы экстракттар алуға, органикалық еріткіштерді қолдануды барынша азайтуға және экологиялық жүктемені төмендетуге мүмкіндік береді, бұл тұрақты фармацевтикалық өндірістің заманауи талаптарына сай келеді.

Қазақстан үшін мұндай технологияларды енгізудің маңызы ерекше, өйткені фармацевтикалық өнеркәсіпті дамыту стратегиялық басымдық болып табылады. Қазақстан Республикасы Президенті Қасым-Жомарт Кемелұлы Тоқаевтың 2020 жылғы 1 қыркүйектегі тапсырмасына сәйкес, 2025 жылға қарай отандық дәрілік заттар өндірісінің үлесі 50%-ға жетуі тиіс. Бұл міндет жергілікті өсімдік шикізатын кеңінен пайдалану мен инновациялық технологияларды енгізуді талап етеді, осы тұрғыда *Rheum cordatum* кешенді зерттеу мен практикалық қолдану үшін бірегей нысан болып табылады.

Зерттеудің мақсаты – *Rheum cordatum* Losinsk. негізінде алынған жаңа полифенольді кешеннің фармакологиялық қасиеттерін зерттеу.

Зерттеу міндеттері:

1. Сверхкритикалық көмірқышқыл газымен экстракция ($ScCO_2$), субкритикалық этанолды экстракция (sbcEtOH) және ультрадыбыстық экстракция (UAE) әдістерімен алынған экстракттардың салыстырмалы фитохимиялық талдауын жүргізу;
2. DPPH, ABTS, CUPRAC тесттері және жалпы фенолдық қосылыстар мөлшері (TPC) бойынша экстракттардың антиоксиданттық белсенділігін бағалау;
3. $ScCO_2$, sbcEtOH және UAE әдістерімен алынған экстракттардың антимикробтық қасиеттерін зерттеу және салыстыру;
4. *Rheum cordatum* Losinsk. негізіндегі полифенольді кешеннің жедел және созылмалы уыттылығын анықтау;
5. Гепатостеатоз моделінде зертханалық жануарларға *Rheum cordatum* Losinsk. экстрактын пероральды енгізудің әсерін бағалау.

Зерттеу объектісі – $ScCO_2$, sbcEtOH және UAE әдістерімен экстракцияланған Rheum cordatum Losinsk. тамырлары мен жапырақтарынан алынған полифенольді кешен.

Зерттеу әдістері. Фитохимиялық, антиоксиданттық, антимикробтық, фармакологиялық, биохимиялық және гистологиялық әдістер қолданылды.

Ғылыми жаңалығы мен маңыздылығы

Алғаш рет *Rheum cordatum* Losinsk. тамырлары мен жапырақтарынан жасыл технологиялар – $ScCO_2$, sbcEtOH және UAE әдістері арқылы алынған экстракттарға кешенді зерттеу жүргізілді.

Алғаш рет UHPLC-MS/MS әдісімен фитохимиялық салыстырмалы талдау жасалып, галло қышқылы, протокатехин, кофеин қышқылы, п-кумар, ферул, эллаг қышқылдары, катехиндер, флавоноидтар мен олардың гликозидтері идентификацияланды.

Экстракция әдісіне және фенолдық құрамға байланысты антиоксиданттық және антимикробтық белсенділік салыстырмалы түрде бағаланды.

Алғаш рет *in vivo* жағдайында полифенольді экстракттардың жедел және созылмалы уыттылығы зерттеліп, олардың фармакологиялық қауіпсіздігі дәлелденді.

$ScCO_2$-экстракттың диета-индукцияланған гепатостеатоз моделіндегі гепатопротекторлық әсері алғаш рет көрсетілді.

Ғылыми-зерттеу жұмысының теориялық маңыздылығы алынған нәтижелердің *Rheum cordatum* Losinsk. өсімдік шикізатын экстракциялаудың заманауи әдістері туралы жаңа ғылыми деректерді көрсетуімен айқындалады. Аталған зерттеуде

Қазақстан аумағында өсетін *Rheum cordatum* Losinsk. негізінде алынған экстракттардың фармакологиялық қасиеттері кешенді түрде сипатталды. Алғаш рет полифенольді кешендердің сандық құрамы мен олардың антиоксиданттық және антимикробтық белсенділігі арасындағы өзара байланыс анықталды.

Зертханалық жануарларда эксперименттік гепатостеатоз жағдайында *Rheum cordatum* Losinsk. негізіндегі $ScCO_2$-экстрактты пероральды енгізу (35 күн бойы) нәтижесінде бауыр ферменттерінің деңгейінің төмендеуі, қан сарысуындағы холестерин мен триглицеридтердің концентрациясының қалыпқа келуі, сондай-ақ гистоқұрылымдық талдау деректері бойынша гепатоциттердегі майлы инфильтрация мен дистрофиялық өзгерістердің айқындылығының азаюы көрсетілді.

Аталған жұмыс фармакология, фармакогнозия және биотехнология салаларында заманауи экстракциялық технологияларды қолданудың теориялық тәсілдерін одан әрі дамытуға негіз қалайды. *Rheum cordatum* экстракттарының тиімділігі мен қауіпсіздігін бағалауға бағытталған токсикофармакологиялық зерттеулер биологиялық белсенді заттарды жоғары селективті экстракциялау бойынша кейінгі зерттеулердің жүргізілуіне ықпал етеді және Қазақстанның дәрілік өсімдік шикізатын кешенді қайта өңдеу мүмкіндігін қамтамасыз етеді. Бұл өз кезегінде отандық фармацевтикалық препараттар спектрін кеңейтуге және Қазақстан Республикасының фармацевтикалық саласының халықаралық деңгейдегі бәсекеге қабілеттілігін арттыруға алғышарттар жасайды.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. UAE-EtOH-1h, UAE-EtOH-4h, sbcEtOH-E: 140°C-60 bar, sbcEtOH-E: 140°C-80 bar, $ScCO_2$: 100 bar-60°C, ScCO2: 150 bar-60°C әдістерімен алынған *Rheum cordatum* Losinsk. экстракттары тамырында 30 қосылыс, ал жапырағында 28 фенолдық қосылыстың бар екенін көрсетті, олардың ішінде галл қышқылы, катехиндер және флавоноидты гликозидтер (рутин, гесперидин) басым болды.
2. $ScCO_2$-150 жағдайында алынған *Rheum cordatum* Losinsk. жапырақтарының экстракты жоғары антиоксиданттық белсенділікпен сипатталды, бұл DPPH бойынша IC_{50} ең төмен мәнімен (0,0132 мг/мл) және жалпы фенолдық қосылыстар мөлшерінің TPC = 140 мг GAE/г деңгейіндегі ең жоғары көрсеткішімен расталды ($p < 0,05$).
3. $ScCO_2$-150 әдісімен алынған *Rheum cordatum* Losinsk. жапырақтары негізіндегі экстракт антимикробтық белсенділік көрсетті: *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. spizizenii*, *P. aeruginosa* және *K. pneumoniae* дақылдарына қарсы MIC = 125–250 мкг/мл деңгейінде әсер етті.
4. $ScCO_2$-150 әдісімен алынған жапырақтардан алынған полифенольді кешеннің фармакотоксикалық әсері анықталмаған: 50 мг/кг дейінгі дозаларда уытты әсерлердің болмауы, «ашық алаң» тесті нәтижелері, ағзалардың салыстырмалы массасы және барлық биохимиялық көрсеткіштер бойынша ($p > 0,05$) расталды.
5. *Rheum cordatum* Losinsk. негізіндегі $ScCO_2$-150 экстрактын 50 мг/кг дозада 28 және 35 күн бойы пероральды енгізу қанның биохимиялық көрсеткіштерінің қалыпқа келуіне және бауырдағы майлы инфильтрацияның айқындылығының төмендеуіне ықпал етті.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы

Зерттеудің практикалық маңыздылығы *Rheum cordatum* Losinsk. өсімдігін экологиялық таза әдістермен алынатын табиғи антиоксиданттар мен гепатопротекторлардың перспективалы көзі ретінде пайдаланудың мүмкіндігін ғылыми тұрғыда негіздеумен айқындалады, бұл Қазақстандағы фармацевтикалық өнеркәсіпті дамытудың басым бағыттарына толық сәйкес келеді.

Докторанттың жеке үлесі

Докторанттың әрбір жарияланымды дайындаудағы жеке үлесі зерттеу нысаны бойынша деректерді жинауды, өсімдік шикізатын жинауды, өсімдік және жануар тектес

объектілерде зертханалық тәжірибелер жүргізуді, алынған нәтижелерді талдау мен интерпретациялауды, сондай-ақ ғылыми жарияланымдардың қолжазбаларын дайындауды қамтыды.

Негізгі ғылыми жұмыстар жоспары

Диссертациялық жұмыс келесі мемлекеттік ғылыми-техникалық жобалар аясында орындалды: «Физиологиялық-генетикалық тәсілдерді пайдалана отырып ауыл шаруашылығы жануарларының өнімділігін арттырудың инновациялық әдістерін әзірлеу» (ИРН BR24993004, 2024–2026 жж.), жоба жетекшісі – б.ғ.к., асс. профессор Мусаева А.С.; «Климаттың өзгеруі жағдайында медицина мен ветеринария үшін перспективалы өсімдіктердің ресурс базасын сақтау және дамыту бағдарламасын әзірлеу» (ИРН BR21882180, № 417-ПЦФ-23-25 келісімшарт, 15.11.2023 ж.), жоба жетекшісі – б.ғ.к., профессор Терлецкая Н.В.

Зерттеу нәтижелерін қарастыру және бекіту.

Диссертациялық жұмыстың негізгі нәтижелері жыл сайын «Биология және биотехнология» факультетінің ғылыми-техникалық кеңесінде, әл-Фараби атындағы ҚазҰУ-дың «Биоалуантүрлілік және биоресурстар» кафедрасының отырыстарында, сондай-ақ «Генетика және физиология институты» РМК Ғылыми кеңесінде талқыланып, бекітілді.

Зерттеу нәтижелері:

1. *Rheum cordatum* өсімдігінің тамырлары мен жапырақтарынан $ScCO_2$, sbcEtOH және UAE әдістері арқылы алынған экстракттардың LC–MS/MS әдісімен жүргізілген салыстырмалы фитохимиялық талдауы нәтижесінде тамырларда 30 қосылыс, ал жапырақтарда екіншілік метаболиттердің әртүрлі кластарына жататын 28 қосылыс анықталды. Зерттеу нәтижелері тамырларда катехиндер мен олардың галлаттарының мөлшері жоғары екенін көрсетті (эпикатехин галлат 83,53 мкг/мг-ға дейін), ал жапырақтар флавоноид гликозидтері мен фенолдық қышқылдардың жоғары құрамымен ерекшеленеді, соның ішінде рутин (21 932 мкг/мг-ға дейін) және гесперидин (14 975 мкг/мг-ға дейін) анықталды;
2. In vitro зерттеулер (DPPH, ABTS, CUPRAC, TPC) барлық экстракттардың жоғары антиоксиданттық белсенділігін көрсетті ($p < 0,05$), әсіресе $ScCO_2$-150 (жапырақтар): DPPH бойынша IC_{50} = 0,0132 мг/мл, ABTS = 0,0462 мг/мл, TPC = 140 мг GAE/г; sbcEtOH-60 үшін – DPPH = 0,0379 мг/мл, ABTS = 0,0521 мг/мл, TPC = 125 мг GAE/г; UAE-M-4h үшін – DPPH = 0,0472 мг/мл, ABTS = 0,0612 мг/мл, TPC = 100 мг GAE/г;
3. *Rheum cordatum* Losinsk. тамырларынан алынған экстракттардың антимикробтық белсенділігі Enterococcus faecalis қатысты расталды. Атап айтқанда, аса критикалық CO2-экстракциясы ($ScCO_2$ 100-60) арқылы алынған үлгі үшін ең төменгі MIC мәні 31,25 мкг/мл құрады, бұл стандартты табиғи антимикробтық агенттердің белсенділігімен салыстырмалы. Жапырақ үлгілері арасында ең жоғары нәтижелерді $ScCO_2$-150 экстракты көрсетті, онда *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* және *Bacillus spizizenii* қатысты MIC көрсеткіштері 125–250 мкг/мл деңгейінде болды.;
4. Жедел және созылмалы уыттылықты зерттеу нәтижелері Rheum cordatum сверхкритикалық CO_2-экстрактының 50 мг/кг дейінгі дозаларда пероральды енгізілгенде жануар ағзасына уытты әсер етпейтінін көрсетті: бауыр мен бүйрек функциясының көрсеткіштері, липидтік алмасу және ағзалардың салыстырмалы массасы физиологиялық норма шегінде қалды;
5. Гепатостеатоз моделінде *Rheum cordatum* полифенольді кешені айқын гепатопротекторлық әсер көрсетті, бұл бауыр ферменттерінің (АЛТ, АСТ, ГГТ, ЩФ) белсенділігінің қалыпқа келуімен, триглицеридтер мен холестерин деңгейінің төмендеуімен ($p < 0,05$), сондай-ақ гистологиялық тұрғыдан расталған бауырдағы майлы инфильтрацияның регрессиясымен дәлелденді.

Жұмыстың жарияланымдары мен апробациясы.

Диссертациялық жұмыстың негізгі мазмұны 6 ғылыми жарияланымда жарық көрді, оның ішінде 3 мақала Scopus және Web of Science дерекқорларында индекстелетін импакт-факторы бар (Q1) халықаралық рецензияланатын ғылыми журналдарда, сондай-ақ 3 тезис халықаралық және республикалық ғылыми конференциялар материалдарында жарияланған.

Жұмыстың құрылымы мен көлемі

Диссертациялық жұмыс 116 беттен тұратын баспа мәтінінде баяндалған және кіріспеден, әдебиетке шолудан, зерттеу материалдары мен әдістерінен, нәтижелер мен оларды талқылаудан, қорытындыдан, пайдаланылған әдебиеттер тізімінен және қосымшалардан тұрады. Жұмыс 20 кестемен және 14 суретпен көркемделген. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі 184 дереккөзді қамтиды.