

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ
АСОСИДАГИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

АБИДОВА АЗИЗА ДЖАЛИЛОВНА

**РЕГЕНЕРАТИВ ФАОЛЛИККА ЭГА ЖАРОХАТ КОМПОЗИЦИЯСИНИ
ЯРАТИШ**

03.00.11 – Гистология, цитология ва ҳужайра биологияси

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Абидова Азиза Джалиловна

Регенератив фаолликка эга жарохат композициясини яратиш.... 3

Абидова Азиза Джалиловна

Создание композиций раневых покрытий с регенеративной активностью..... 21

Abidova Aziza Djalilovna

Creation of wound dressings with regenerative activity..... 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works..... 42

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ
АСОСИДАГИ БИР МАРТАЛИК ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

АБИДОВА АЗИЗА ДЖАЛИЛОВНА

**РЕГЕНЕРАТИВ ФАОЛЛИККА ЭГА ЖАРОХАТ КОМПОЗИЦИЯСИНИ
ЯРАТИШ**

03.00.11 – Гистология, цитология ва ҳужайра биологияси

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2020.2.PhD/B458 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тошкент тиббиёт академиясида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус ва инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида (www.ibb-nuu.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:	Цеомашко Наталья Евгеньевна биология фанлари доктори
Расмий оппонентлар:	Шахмурова Гульнара Абдуллаевна биология фанлари доктори, профессор Хашимова Зайнат Саттаровна биология фанлари доктори
Етакчи ташкилот:	Тошкент фармацевтика институти

Диссертация химояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.B.01.13 рақамли Илмий кенгаш асосидаги бир марталик илмий кенгашнинг 2021 йил «21» апрел соат 14:00 даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246–68–96).

Диссертация билан Биофизика ва биокимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№____ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

Диссертация автореферати 2021 йил « ____ » _____ куни тарқатилди.
(2021 йил « ____ » _____ даги № _____ рақамли реестр баённомаси).

Сабиров Равшан Заирович

Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш
раиси, б.ф.д., академик

Позилев Маъмуржон Комилжонович

Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш
котиби, б.ф.д.

Ахмеджанов Искандар Гулямович

Илмий даражалар берувчи бир марталик илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Жахон тиббиёти ва фармакологиясининг долзарб муаммоларидан бири турли хил келиб чиқадиган жароҳатларни даволаш учун дори шакллари ишлаб чиқиш ва яратиш бўлиб қолмоқда, чунки жароҳат қопламалари учун жуда кўп талаблар қўйилади бу фақат полифункционал қопламалар бўлиши мумкин. Жароҳат қопламалари регенератив самарага эга бўлиши, парчаланадиган, биологик мос келадиган, токсик, пироген, аллергиялик бўлмаслиги керак, жароҳат қатламига юқори сингиш қобилятига эга бўлиши керак, микроорганизмлардан химояланган бўлиши, газлар, сув буғларини ўтказувчанлик ва бошқа хусусиятларга эга бўлиши керак.

Дунёнинг етакчи тадқиқот марказлари кўп функцияли жароҳат қопламаларини яратиш бўйича интенсив тадқиқотлар олиб бормоқда. Бироқ, барча сай-ҳаракатларга қарамай, ҳозирда мавжуд бўлган боғлов материалларининг ҳеч бири юқоридаги талабларни барчасини ўзида мужассам этмаган. Шунинг учун ушбу соҳада қўшимча тадқиқотлар ўтказиш муҳим аҳамият касб этади.

Мамлакатимизда ҳозирги кунда маҳаллий хом-ашё асосида импорт ўрнини босувчи янги доривор воситалар яратиш ҳамда фармацевтика саноатини янада ривожлантириш мақсадида кенг кўламли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда. Маҳаллий фармацевтика саноати доимий ва полифункционал коллаген асосидаги жароҳат қопламаларининг ишланмаларини ишлаб чиқаришни ҳали йўлга қўйгани йўқ. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, тиббиёт муассасалари ва аҳолини арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш»¹ юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Ушбу вазифаларни амалга оширишда регенератив ва антимикроб таъсирга эга маҳаллий полифункционал, доимий жароҳат қопламаларини ишлаб чиқиш ва яратиш, шубҳасиз турли хил этиологияли жароҳатларни даволашда ва импорт ўрнини босишда муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги ва 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310-сон «Тиббиёт ва фармацевтика таълими ва илм-фани тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Қарорлари ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февральдаги ПФ-4947 сонли «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси» тўғрисидаги фармони

республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Бугунги кунда фақатгина 2020 йилда PubMed маълумотлар базасида коллаген асосидаги жароҳат қопламалар ва янги тажрибаларнинг 5000 дан ортиқ хили ҳақида маълумот мавжуд. Коллагенли жароҳат қопламалари- бу таркибида антибиотик мавжуд гидрогелли коллаген (Ghica M.V. et al., 2011), биологик фаол компонентларга эга коллаген комплекслари (Mitra T. et al., 2011, Berechet M.D. et al., 2020) ва асоси электроформланган нанотўқимали коллаген (Fullana M.J. et al. 2012) ва биологик тери ўрнида фойдаланса бўладиган Biobrane®, Integra®, Apligraf® ва Transcyte® (Zhong S.P. et al., 2010) ва икки қаватли фибрин елимли коллагенли мембраналар (Richter M. et al., 2020) ва трифункционал полиуретанли коллаген гибриди (Claudio-Rizo J.A. et al., 2020) ва хитозан/коллаген асосидаги пленкалар (Andonegi M. et al., 2020, Cao J. et al., 2020) ва бошқалар.

МДХ мамлакатларида коллаген ва уни асосидаги турли маҳсулотларни саноат миқёсида ишлаб чиқаришади (Kukhareva L.V. et al., 2010, Кауламбаева М.З., 2010), жумладан жароҳат қопламалари ва тўқима-инженерлик конструкциялари.

Мамлакатимизда ушбу муаммо билан Биоорганик кимё институти олимлари томонидан жароҳат қопламалари-коллагенли губкалар асоси учун коллаген ажратилган (Раджабов О.И. ва бошқ. 2011). Ўсимлик моддалари кимёси институтида Цеомашко Н.Е. ва Азимова Ш.С. томонидан терининг терапияси учун дермал эквивалентини яратиш учун коллаген ажратилган ва илмий изланишлар олиб борилган. (2012).

Диссератция тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Тошкент тиббиёт академияси илмий-тадқиқот ишлари режасининг ПЗ-2017092910 «Юмшоқ тўқималар ва терини турли генезли жароҳатланишини даволаш учун ярим ўтказувчи ва биодеградацияланувчи жароҳат қопламаларини яратиш» (2018-2020) амалий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади антимиқроб, антиоксидант ва регенератив фаолликка эга, биологик фаол компонентлар қўшилган коллаген асосли, бутунлай парчаланадиган, биомос келадиган, кўп функцияли жароҳат қопламаларининг янги композицияларини яратишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

келажакда олинадиган композициялар учун энг фаол концентрацияли, микробларга қарши, пролифератив ва антиоксидант фаоллиги мавжуд бўлган, биологик фаол компонентларни (алкалоидлар, флавоноидлар, ўсимлик экстрактлари) аниқлаш ва танлаш;

каламус думининг пайларидан коллаген олиш, оддий жароҳат қопламаларини яратиш, токсиклигини, физик-кимёвий хусусиятларини ва регенератив фаоллигини баҳолаш;

коллаген ишлаб чиқаришни саноат миқёсига ўтказиш учун қорамол пайларидан коллаген ажратиш;

каламуш, қорамол коллагени ва биологик фаол компонентлар асосида мураккаб жароҳат қопламаларини яратиш, физик-кимёвий хусусиятларини, токсиклигини ҳамда регенератив фаоллигини баҳолаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида оқсиллар кимёси усули билан ажратиб олинган коллаген, алколоидлар, флавоноидлар, ўсимликлар экстракти, бирламчи фибробласт хужайралари, граммусбат (*B.subtilis* ва *S.aureus*) ва грамманфий (*P. aeruginosa* ва *E.coli*) бактерияларнинг штамлари ва *C.albicans* замбуруғлари; куёнлар, каламушлар, уларнинг аъзолари ва биологик суюқликлар олинган.

Тадқиқотнинг предмети цитотоксик, пролифератив, антибактериал, замбуруғларга қарши, антиоксидант, ярага қарши ва жароҳат қопламалари, уларнинг таркибий қисмларининг регенератив фаоллиги, ўткир ва сурункали токсиклиги, жароҳат қопламаларининг жароҳатни даволаш таъсири.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотни амалга оширишда хужайра биологияси (хужайра культураларини олиш ва цитотоксикликнинг скрининги), оқсиллар кимёси усуллари (оқсилни ажратиш ва тозалаш), биокимё усуллари (нейтрал қизил тести, МДА миқдорини аниқлаш, каталаза фаоллиги, ишқорий фосфатаза, АлТ, АсТ ва бошқ.), физик-кимёвий усуллар (қалинлиги, мустахкамлиги, адгезия кучи), фармако-токсикология усуллари (ўткир ва сурункали токсиклигини, тери резорбтив ва бошқа ҳаракатларни баҳолаш), гисто-морфология усуллари (экспериментал хайвонлар аъзолари, тўқималар морфологиясини ва уларнинг гистологиясини баҳолаш), иммунология (ИФА) усулларидан фойдаланилди. Математик ва статистик маълумотлар Origin 7.5 (Origin Lab) дастурий таъминоти ёрдамида қайта ишлов берилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

биринчи марта коллаген асосидаги полифункционал, биологик мослашувчан, парчаланадиган, токсик бўлмаган, жароҳатларни боғлайдиган, ўсимликлардан олинадиган биологик фаол компонентлар филлалбин алкалоиди, флавоноид кверцетин, кверцетин гликозиди рутин ва *Rumex confertus* (Rc) экстракти билан янги композициялар олинган;

жароҳат қопламалари учун биологик фаол қўшимчаларнинг самарали концентрацияси аниқланди: 12,5-25 мкг/мл филлалбин алкалоиди фибробластларнинг пролиферациясини чақиради, 150 мкг/мл кверцетин ва рутин, антиоксидант ва жароҳатни даволаш самарасини беради, 50 мкг/мл *R.confertus* ўсимлик экстракти фибробластларнинг пролиферациясини стимуллади ва патоген микроорганизмларнинг кўпайишини олдини олган;

йирингли ва куйган жароҳатларнинг тикланишини 1,49-1,73 марта тезлаштириш имконини берадиган антимиқроб, антиоксидант ва регенератив фаолликка эга бўлган композициялар аниқланган;

каламуш ва қорамол коллагенига асосланган жароҳат қопламалари композицияларининг физик-кимёвий, фармако-токсикологик ва тиббий биологик кўрсаткичлари нуқтаи назаридан характеристикаси берилган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

махаллий хом ашё асосида яратилган жароҳат қопламаларининг янги полифункционали композициялари йирингли ва куйган жароҳатларни, шунингдек яраларни даволашда самарали бўлиб, жароҳат қопламаларининг кенг кўламли талабларига мос келади, токсик бўлмаган, гистологик мос, гипоаллерген, парчаланадиган, клиникагача бўлган текширувларнинг тўлиқ спектри асосида тасдиқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончилиги. Натижалар замонавий хужайра технологиялари, гистологик, биокимёвий, фармако-токсикологик ва физик-кимёвий усуллари ёрламида олинганлиги билан тасдиқланади ва замонавий аналитик ҳамда статистик усуллар ёрдамида таҳлил қилинганлиги билан асосланади. Бу мутахассисларнинг эксперт хулосалари, шунингдек миллий ва халқаро илмий конференциялардаги муҳокамалар, материалларнинг рецензиядан ўтадиган илмий журналларда нашр этилиши билан изоҳланади, бундан ташқари 2 та патент олиш учун Ўзбекистон Республикасининг интеллектуал мулк агентлигига аризалар топширилган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шундан иборатки, коллагенга филлалбин, кверцетин, рутин ва *R.confertus* экстракти *ex situ* киритилиши, плёнка кўринишидаги полифункционал, регенератив фаолликка эга, тиббий-биологик ва физик-кимёвий хусусиятларини сақлаб қолган ҳолда жароҳат қопламаларини олиш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, олинган янги жароҳат қопламалари композицияларнинг асосий қисми клиник олди тадқиқотлардан ўтган, натижада уларнинг полифункционал фаоллиги, гистологик мутаносиблиги, токсик бўлмаганлиги ва регенератив фаоллиги тасдиқланди, натижада ушбу препаратларни кейинчалик клиник амалиёт учун, бундан ташқари маҳаллий фармсаноатида йирингли, куйиш ва сурункали жароҳатларни даволашда юқори самарали ва рақобатдош препаратлар сифатида тавсия этиш учун асос бўлади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Регенератив фаолликка эга биологик фаол компонентлар билан коллаген асосида кўп функцияли жароҳат қопламалар композицияларини яратиш бўйича олинган натижалар асосида:

тажрибалардаги хайвонлар ошқозонида жароҳат моделларига биологик фаол компонентларнинг гастропротектор таъсири, «Бўшаштириш хусусиятига эга «Равонол» биологик фаол кўшимчасини серияли ишлаб чиқаришни ташкил этиш» И-6-ФА-ТО31 рақамли инновацион лойиҳада ушбу препаратнинг хоссаларини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 14 октябрдаги №4/1255-2195-сон маълумотномаси). Натижада, ушбу препарат тиббиётда жароҳатга қарши таъсирга эга восита сифатида фойдали эканлиги кўрсатилди;

биологик фаол компонентларнинг турли генездаги жароҳатларга (йирингли жароҳат, куйиш) даволовчи таъсири «Бўшаштириш хусусиятига эга «Равонол» биологик фаол қўшимчасини серияли ишлаб чиқаришни ташкил этиш» И-6-ФА-ТО31 рақамли инновацион лойиҳада ушбу препаратнинг регенератив хусусиятларини аниқлашда жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 14 октябрдаги №4/1255-2195-сон маълумотномаси). Натижада ушбу препаратни тиббиётда регенератив фаолиятга эга восита сифатида фойдаланиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 6 та халқаро ва 2 та республика илмий анжуманларида муҳокамадан ўтказилди.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 14 та илмий ишлар чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 6 та мақола, жумладан, 3 таси халқаро ва 3 таси республика журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхатларидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 120 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурийлиги, мақсад ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объект ва предметлари ифодаланган, тадқиқотнинг республика фан ва технологияларни ривожлантиришнинг устувор йўналишларига мувофиқлиги келтирилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг назарий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Жароҳат қопламалари ва жароҳат терапиясининг адабиётлар шархи»** деб номланган биринчи бобида, жароҳат қопламаларига қўйиладиган талаблар ва замонвий жароҳат қопламаларининг хилма хиллиги, ҳам шу йўналишдаги турли тажрибалар келтирилган. Жароҳатларнинг хилма-хиллиги, жароҳатларнинг юқиши, асоратлари тўғрисида хорижий ва маҳаллий адабиётларнинг шарҳида батафсил баён этилган, тўқималар шикастланишининг этиологияси, нозологияси ва терапия усуллари берилган, жароҳатларни боғлашга қўйиладиган талаблар ва замонвий жароҳат қопламалари ва шу йўналишдаги тадқиқотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Оқсиллар кимёси, гистология ва хужайра биологияси материаллари, шартлари ва усуллари»** деб номланган иккинчи боби экспериментал қисмини ўз ичига олади, унда қўлланилган реактивларнинг хусусиятлари ва унга асосланган коллаген ва жароҳат

қопламаларини олиш усуллари, цитотоксиклик, токсиклик, регенератив, пролифератив ва баҳолаш усуллари ва бошқалар келтирилган.

Диссертациянинг учинчи боби **«Каламуш коллагенига асосланган жарохат қопламаларини олиш ва уларнинг регенератив фаоллигини йирингли жарохат моделларида баҳолаш»** га бағишланган. Ушбу бобда лаборатория шароитида каламуш думларининг пайларидан коллаген ишлаб чиқариш бўйича микробларга қарши, пролифератив ва антиоксидант таъсирга эга жарохат қопламаларининг (ЖК) композициялари учун биологик фаол компонентларни (БФК) танлаш бўйича каламуш коллагенига асосланган оддий композицияларни яратиш, унга БФКларни *ex situ* киргизиш бўйича тадқиқотларимиз натижалари келтирилган.

Коллаген 0,1 Н сирка кислотаси ёрдамида каламуш думидаги пайлардан ажратиб олиниб, центрифуга қилиш ёрдамида концентрланган ва дистилланаган сувга нисбатан диализланган.

Фибробласт хужайраларининг энг фаол БФКнинг бошланғич культураларини танлаш учун *neutral* қизил колориметрик усул ва цитотоксиклиги *in vitro* усуллар ёрдамида БФКнинг пролифератив хусусиятларини баҳолаш учун фойдаланилган; антимикроб фаолияти ЎзРССВ НИИЭМИЗ томонидан тақдим этилган микроорганизмларнинг шартли штаммлари ёрдамида Егоровга мувофиқ тешиқлар усули билан баҳоланди; флавоноидларнинг антиоксидант ва захарга қарши фаоллиги *in vivo* усуллар билан экспериментал стрессда ва ошқозон ярасининг индометацин билан боғлиқ моделларида аниқланди;

БФК ларнинг ўткир ва сурункали токсиклиги *in vivo* усуллар ёрдамида аниқланди. БФК сифатида ўрганилди: «Консубин» препаратининг субстанцияси—икки хил алкалоид аралашмаси: конвольвин ва конволамин (Ко), бундан ташқари индивидуал бирикмалар— филлальбин алкалоиди (F). Ушбу препаратлар *Convolvulus* (*C. subhirsutus*, *C. krauseanus*) туркумидаги ўсимликлардан ЎзР ФА ЎМКИ алкалоидлар лабораториясида проф. Арипова С.Ф. бошчилигида ажратиб олинган. Кверцетин (К) ва унинг гликозиди—рутин (Ru)-флавоноидлари *S. japonica* куртакларидан ЎзРССВ, Фармацевтика институтида ажратиб олинган ва Махмудов С.Д. томонидан тадқиқотлар учун тақдим этилган. Антимикроб фаолликка эга бўлган (*Rc*) *R. confertus* ўсимлигининг ер усти ва илдиз қисмларидан ажратилган полифенол (танин) бирикмаларининг қуруқ экстракти. Экстракт ЎзР ФА нинг Биоорганик кимё институтида Махмудов С.Д. томонидан ажратилган, токсиклиги ва антимикроб фаоллиги ўрганилган.

Тижорат препарат «NeuSkin-F» (Eucare Pharmaceuticals (P) Limited, India)—коллаген асосидаги қўшимчаларсиз жарохат қопламаси олинган натижаларни солиштириш учун хизмат қилади.

Биологик фаол компонентларнинг цитотоксиклиги ва ўткир токсиклигини баҳолаш. Ушбу БФКнинг цитотоксиклиги ва пролифератив фаоллигини баҳолаш тери хужайраларининг бирламчи культуралари-янги туғилган каламуш болаларининг дермисидан олинган фибробластларда ўтказилди. БФК 0,78-200 мкг/мл концентрацияларда текширилди. Натижада

аниқланишича барча БФК 50 мкг/мл дан паст дозада фибробластларни у ёки бу даражада пролиферациясини стимуллайти. IC_{50} R_c учун 150 мкг/мл, Ko учун IC_{50} 100 мкг/мл тенг, қолган барча БФК лар учун $IC_{50} > 200$ мкг/мл (1-жадвал) ташкил қилади. 0,78-200 мкг/мл гача бўлган концентрацияларда тери хужайраларининг кунлик таъсири фибробластларнинг пролифератив фаоллигининг сезиларли ўзгаришларига олиб келади, жумладан филлалбин алколоиди барча препаратлар ичида пролиферацияни юқори даражада келтириб чиқаради, пролиферация пиклари 1,5 мкг/мл ва 12,5-25мг/мл ($P \leq 0,001$) концентрацияларда кузатилади.

1-жадвал

Фибробласт хужайраларининг тириклик фоизи, текширилаётган моддаларнинг турли концентрацияда 24 соат давомида фибробластларга таъсири

Моддалар миқдори мкг/мл	Моддалар таъсиридан кейин фибробласт хужайраларининг тириклик фоизи				
	Филлальбин	Кверцетин	Консубин	Экстракт R_c	Рутин
0,8	116,8±1,01	125,5±1,15*	98,5±1,09	115,2±1,42	118,0±1,24
1,6	166,7±2,03**	122,2±1,54*	110,0±1,39	110,5±1,93	94,2±2,33
3,1	93,7±1,36	115,7±1,89	66,2±1,30	103,8±0,99	96,7±0,97
6,2	115,8±2,12	110,2±1,64	104,0±1,71	107,3±1,22	100,5±1,95
12,5	179,3±1,93**	111,0±2,31	108,2±1,78	134,8±1,78	97,5±1,89
25	124,0±1,51*	135,0±1,83*	117,8±1,35	126,2±1,80*	103,5±1,69
50	83,8±2,27*	136,0±1,59*	96,2±1,87	147,0±1,88*	97,3±1,63
100	68,5±1,98*	76,8±1,66*	51,2±2,04**	58,0±2,68**	80,2±2,30*
200	71,8±1,19*	67,3±1,94*	39,3±1,23**	42,7±1,87**	66,8±1,58*

Изох: хужайраларнинг ҳаёттилик даражаси 100% * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,001$ интакт хужайралар билан таққосланганда

Антиоксидант-флавоноид кверцетин 50 мг/мл дан куйи концентрацияда ахамиятсиз, аммо бир меъёрдаги пролифератив таъсир кўрсатди. 25-50 мг/мл концентрациясида R_c нинг антимиқроб фаолиятга эга экстракти ҳам пролифератив фаоллигини намоён этди. Алкалоидлар (конвольвин, конволамин) ва индивидуал алкалоид филлалбин йиғиндисининг ўткир токсиклигини ўрганиш танасининг вазни 138-160 г бўлган оқ каламушларда ўтказилди. Алкалоидларнинг концентрациялари: 3,12 -200 мг/кг, бир марта вена ичига (в/в) ва тери остига (п/к) юборилган. Алкалоидлар суммаси учун $LD_{50}=25$ мг/кг (в/в) ва 50 мг/кг (п/к), филлальбин учун $LD_{50}=150$ мг/кг (в/в) ва 200 мг/кг (п/к) аниқланди. *R.confertus* ўсимлигининг қуруқ экстракти ўткир токсиклигини аниқлашда ҳатто 5000 мг/кг дозада оғиз орқали юборилганда тажрибадаги хайвонларнинг ўлими кузатилмади ва хавфлиликнинг 5-синфи, деярли токсик бўлмаган моддаларга таснифланди, лекин *in vitro* тажрибаларда IC_{50} аниқланди, юқори дозада ошқозон-ичак тракти орқали қонга ўтиб муҳим модификацияга учрайди ва токсиклиги камаяди. Флавоноид кверцетин ва унинг гликозиди рутин учун ўткир токсиклик ўтказилмади, адабиётлардаги маълумотларга кўра улар токсик эмас, ва уларнинг $LD_{50} > 5000$ мг/кг

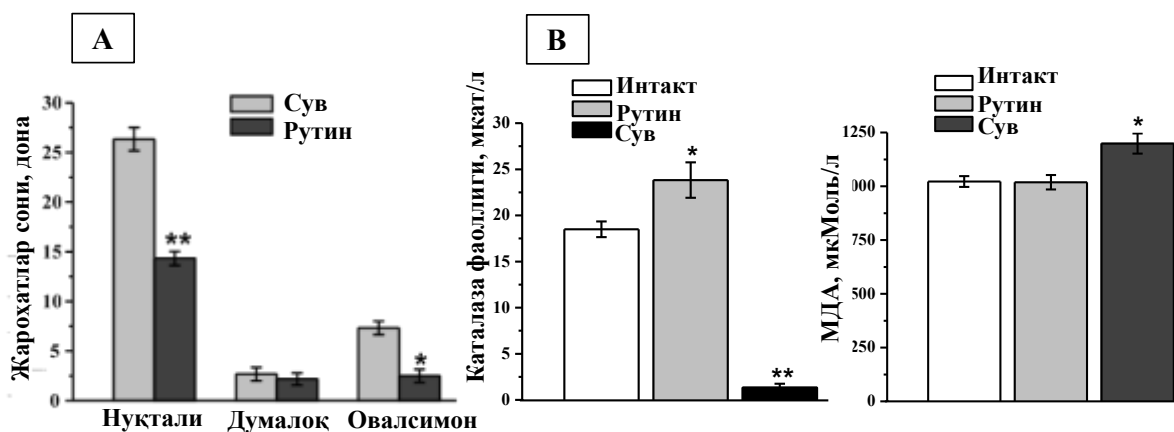
Биологик фаол компонентларнинг хроник токсиклигини баҳолаш. Алкалоидларнинг субхроник токсиклиги ўрганилди-алкалоидлар йиғиндиси ва индивидуал алкалоид филлалбин. Тажрибалар 150-160 г гача бўлган каламушларда ўтказилди. Алкалоидларнинг эритмалари хар куни каламушларнинг ошқозонига бир ой давомида 5,10 ва 50 мг/кг дозада юборилди. Хайвонларнинг барча гурухларига алкалоидларни сўнгги инъекциясидан сўнг ВС-3000 (Mindray, P.R.China) гематологик анализаторида кўрсаткичларини аниқлаш учун қисман резекция йўли билан дум томиридан қон аликвоталари олинган. Хайвонларда эфир наркози ёрдамида беҳушлик чақириб, декапитация қилиш усули билан биокимёвий текширувлар учун қон ва морфологик текширувлар учун ички аъзолари олинди. Қон зардобининг биокимёвий кўрсаткичлари унифицирланган усуллар билан реактив тўпламлари ёрдамида ВА-88 А биокимёвий анализаторида аниқланди: (Mindray, Xitoy P.R.) (CYPRESS Diagnostics, Belgiya). Аниқланишича, ўрганилаётган алкалоидлар қуйи дозада узок муддат давомида экспериментал хайвонларга оғиз орқали юбориш яхши таъсир кўрсатади. Ўрганилаётган препаратларни 5-10 мг/кг дозада қабул қилган каламушлар қонининг гематологик ва биокимёвий кўрсаткичлари интакт гуруҳдаги хайвонларнинг кўрсаткичларига тўғри келади, аммо дозанинг ошиши билан кўрсаткичлар патологик томонга ўзгаради, шундай қилиб фермент фаоллиги кўрсаткичлари–ишқорий фосфатаза, АсТ ва АлТ бир ой давомида 50 мг/кг дозада алкалоидларни (конволвин, конволамин) қабул қилган хайвонларда ишонарли ($P<0,02$) ошади, қонда холестерин миқдори кўпаяди ($P<0,05$) умумий оқсил миқдори эса камаяди ($P<0,05$) бу овқат хазм қилиш трактининг ишдан чиққанлиги ва алкалоидларнинг кумулятив таъсиридан дарак беради. Шу муносабат билан терапияда алкалоидлар суммасини 50 мг/кг дозада қўллаш мақсадга мувофиқ эмас ва максимал дозаси 10 мг/кг дан ошмаслиги керак. 50 мг/кг гача бўлган филлалбин томир ичига юборилганда ҳам хавфсиздир. Флавоноид кверцетин ва унинг гликозиди рутин учун сурункали токсиклик баҳоланмаган, чунки кучуклар ва каламушларда ўтказилган сурункали захарланиш тажрибаларида ушбу фенолли бирикмаларни 3 хафта давомида хар куни 500 мг/кг дозада оғиз орқали истеъмол қилиш хайвонлар органлари ва биологик сууюқликларда патологик ҳолатларни келтириб чиқармаслиги адабиётлардан маълум.

Биологик фаол компонентларнинг антимикроб фаоллигини баҳолаш. Ўрганилган микроорганизмлар штаммларининг суспензиялари “газон” усули билан Петри идишларида озиклантирувчи агар юзасига экилган. Хар бир сууюлтиришдан 0,05 мл хажмдаги синов моддалари уруғланган озукавий агарнинг юзасига сурилган. Бир сутка инкубациядан сўнг микроорганизмларнинг ўсишини тўхташ зонасини ўлчанди (d) ва минимал ингибирловчи концентрацияси (МИК) хисобланди. Алкалоидлар суммаси МИК 5%да *E.coli* (d=25 мм)ни, МИК 2,5% ва 1,25% да *S.epidermidis* ва *C.albicans* (d=20 мм)ни ўсишини тўхтатади. Филлальбин ҳам микроорганизмларнинг ўсишини тўхтатади, лекин текширилаётган алкалоид

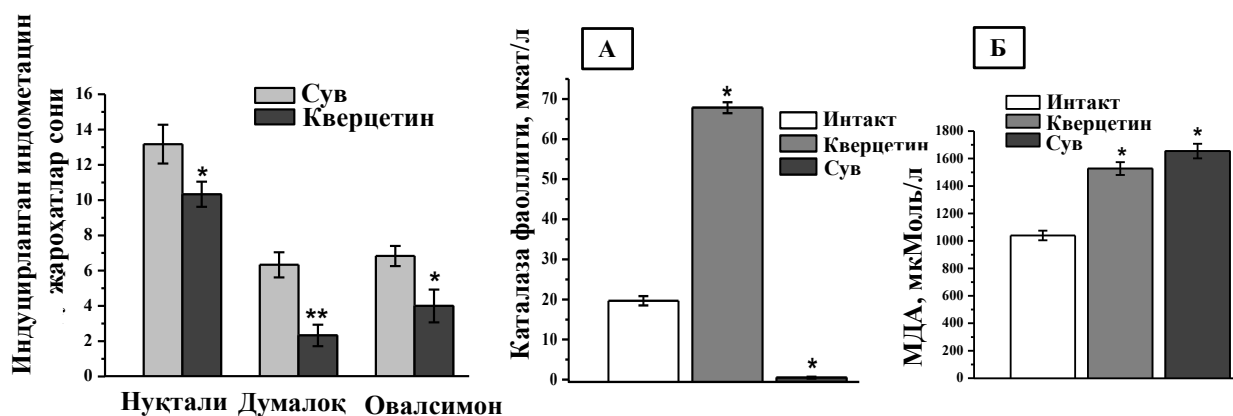
суммаларидан анча юқори концентрацияларда. Филлальбин МИК 5%да *E.coli* (d<20 мм)ни, МИК 10% ва 2,5% да *S.epidermidis* ва *C. albicans* (d<20 мм)ни ўсишини тўхтатади. Рутиннинг изопропанолдаги эритмасини *P.aeruginosa* 003841/114, *C.albicans* 003592/723, *C.freundii* 002801/27, *S.marcescens* 367, клиник изолят *P.mirabilis* 9 нисбатан антимикроб фаоллиги кузатилмади. *E.coli* NC101 ва *S.saureus* 60 ни ўсишини рутиннинг хамма эритмалари 25-200 мкг/мл тўхтатган (d=11 мм). *E.faecalis* OGIFR1 штамми рутиннинг 25 мкг/мл даги эритмасига сезгирлиги аниқланди. (d=19 мм). 12,5 мкг/млда рутин эритмаси *K.pneumoniae* B-1823 (d=11 мм) ўсишини тўхтатган. Шундай қилиб, алкалоид филлалбин ва флавоноид рутин антимикроб фаоллигини намоён қилди, шу билан бирга филлалбин фибробластлар пролиферациясини стимуллади, рутин эса маълум бўлганидай антиоксидант, *R.confertus* ўсимлигининг қуруқ экстракти Махмудов С.Д. олган натижалар кўра антимикроб таъсирга эга ва 50-100 мг/мл концентрациясида *B.subtilis* 5, *E.coli*, *P.aeruginosa* ва *S.aureus* (d= 18-25 мм) ўсишини ингибирлайди.

Флавоноидларнинг антиоксидант ва захарланишга қарши таъсири. Шиллик қаватнинг шикастланиши кенг тарқалаган патология. Флавоноид кверцетиннинг гастропротектор, антиоксидант, гепатопротектор, капилляропротектор, яллиғланишга қарши ва антигистамин фаоллиги ҳақида маълумотлар мавжуд. Шу муносабат билан маҳаллий флавоноидлар кверцетин ва рутиннинг антиоксидант ва гастропротектив фаоллигини ўрганиш долзарбдир. Бунинг учун каламушларда ошқозон жарохатининг экспериментал стресс ва индометацин моделлари яратилди, бунда тажрибадаги каламушларга моделлаштиришдан 9 кун олдин хар куни 150 мг/кг дозада флавоноидларни оғиз орқали юборилди, назорат гуруҳидагиларга сув берилди. Қон аликвоталари МДА миқдори ва каталаза фаоллигини аниқлаш учун, ошқозон эса ошқозон яраларини ҳисоблаш учун олинди. Тажриба натижасида 24 соат давомида иммобилизация стрессига учраган каламушларда ошқозон шиллик қаватининг, майда нуқта, юмалоқ ва овал шаклдаги нуқсонлар пайдо бўлишида намоён бўлганлиги аниқланди (1-расм А). Шикастланишнинг умумий юзаси ошқозон сиртининг 10%дан кўпроғини ташкил қилади. Бундай ҳолда шикастланишнинг кўпроқ майда нуқтали ва овал шакллари борлиги қайд этилган. Рутин қабул қилган хайвонлар ошқозонида шиллик қаватининг шикастланиш соҳаси сезиларли (* $P \leq 0,01$; ** $P \leq 0,001$) даражада кичрайган. Бундан ташқари тажриба гуруҳидаги хайвонларда аниқланишича рутин каталаза ферментини активлайди ва МДА миқдорини камайтиради, бу эса иммобилланган стресснинг салбий факторларини нейтраллашга йўл беради (1-расм, В).

Флавоноид кверцетин шунингдек гастропротектив самарасини кўрсатган, чунки бу препарат билан боқилган хайвонларда меъда шиллик қаватидаги жарохатларининг камлиги кузатилган (2-расм), индометацин индуцирланган ошқозон жарохати моделида қон зардобида каталаза фаоллиги ошиши ва МДА миқдорининг пасайиши ($P \leq 0,001$) (2-расм А,В).



1-расм, А-Экспериментал индуцирланган иммобилланган стрессда ошқозон жароҳат моделида келиб чиққан ошқозон язвалар сони: рутин ва сув билан даволанган хайвонлар кўрсаткичлари таққосланганда * $P \leq 0,01$; ** $P \leq 0,001$. В-Экспериментал язва моделдаги хайвонлар қоннинг зардобдаги каталаза фаоллиги ва МДА миқдори индуцирланган иммобилланган стрессда ва рутин билан даволанганда: интакт хайвонлар кўрсаткичлари билан солиштирилганда қийматларнинг статистик оғиши * $P \leq 0,005$; ** $P \leq 0,001$.



2-расм. Индуцирланган индометацин ошқозон язвасининг экспериментал моделидаги язвалар сони: плацебо (сув) билан даволанган хайвонларнинг қийматларнинг статистик оғиши * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$. А–каталаза фаоллиги ва Б– индометацин таъсирида пайдо бўлган ошқозон жароҳатининг экспериментал модели хайвонларнинг қон зардобдаги МДА миқдори: интакт хайвонлар индекслари билан солиштирилганда қийматларнинг статистик оғиши * $P \leq 0,001$.

Шундай қилиб, Ўзбекистон Республикаси ССВ қошидаги Фармацевтика институтида япон сафораси *S. japonica* куртакларидан ажратилган флавоноид кверцетин ва унинг гликозиди рутин гастропротектив, яллиғланишга қарши ва антиоксидант хусусиятларига эга бўлиб, улар турли этиологияли жароҳатларни даволашда муҳим аҳамиятга эга ва уларнинг фаол концентрацияси 150 мкг/мл, бу эса 150 мг/мл дозага эквивалент.

Жароҳат қопламаларининг композицияларини олиниши ва уларнинг физик-кимёвий, тиббий-биологик ва токсикологик хусусиятларини баҳолаш. Каламуш думлари пайларидан ажратилган, диализланган гел шаклдаги коллагендан плёнка кўринишидаги жароҳат қопламаларининг БФК билан

турли хили 6 тадан (45 мм²) яратилди, булар кверцетин (К-РС), филлальбин (F-РС), консубин (Ко-РС), рутин (Ru-РС) ва антибиотик–антимикотик, 10000 Ед пенициллин ва 10 мг/мл стрептомицин ва 25 мг/мл амфотерицин В таркибли 0,9% ли физиологик эритмада (АА-РС), бундан ташқари кўшимчаларсиз (РС). Петри идишларига БФК бор ва БФК йўғидан гел шаклдаги коллагендан 20 ва 40 мл (диаметри 90 мм) қуйилади. БФК гелга *ex situ* физик усул билан фаол концентрацияларда киритилди: F-12,5 мкг/плёнкага, К ва Ru-150 мкг/плёнкага, Ко-10 мкг/плёнкага, АА-1% ли эритма хисобида. Плёнкаларнинг эластиклиги учун 1% тиббиёт глицерини гел таркибига кўшилди. Қуритиш хона хароратида ламинар боксда ўтказилди; жарённи тезлаштириш учун аммиак буғларидан фойдаланилди. Натижада Ко-РС гели (консубин билан) қуримади ва кейинги тадқиқотларда ишлатилмади. Олинган плёнкларнинг (РС, К-РС, F-РС, Ru-РС ва АА-РС), физик-кимёвий хусусиятлари, масалан адгезия кучи, қалинлиги ва мустахкамлиги ўрганилди. Флавоноидли жарохат қопламалари мустахкамлиги сустроқ бўлиб, оддий коллаген плёнкага нисбатан пастроқ адгезия кучига эга. Петри идишларига коллагенли гелни 40 мл хажмда қуйиш пленкани қалинлиги ва мустахкамлигини, шунингдек ахамиятсиз даражада адгезия кучини оширади.

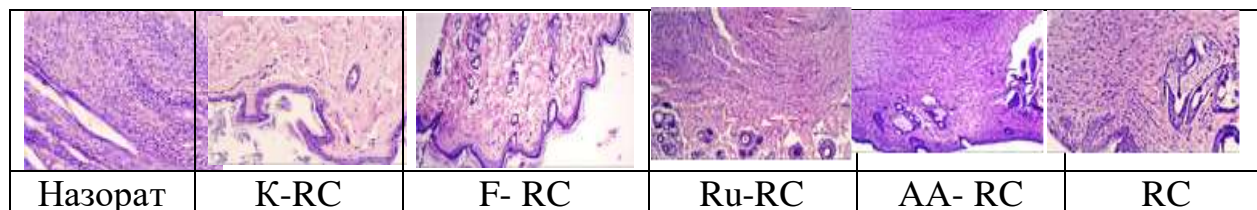
Экспериментал йирингли жарохат моделларида жарохат қопламаларининг регенератив хусусиятларини баҳолаш. Йирингли жарохат моделлари 150-170 г оғирликдаги оқ эркак каламушларда моделлаштирилди. Каламушлар 6 та гуруҳга 6 тадан ажратилди. Тажрибалар эфир наркози остида ўтказилди. Хайвонларнинг орқа елка депилляция қилинган қисмига трафарет ёрдамида хажми 2,0х2,0 см бўлган тўлиқ қалин тери жарохатлари моделланди. Хар бир жарохатга микроорганизмлар штамmlарини ўз ичига олган 0,2 мл аралашма суртилган: №9572 *S.albicans Berkant*, №М-3-87 *S.epidermitis*, №АТСС 25922 *E.coli* 1 мл концентрацияда 1×10^5 микроб таналари мавжуд. Хар бир хайвон алоҳида қафасда сақланди. Жарохатларни даволаш учинчи куни, барча экспериментал хайвонларда йирингли жарохатлар борлигини визуал равишда аниқлагандан сўнг амалга оширилди. Йирингли жарохатларни даволаш тезлигини баҳолаш учун планиметрик усуллардан фойдаланилди, жарохатга стерил целофан ёки полиакрил пластинкаси қўйилди, сўнгра унинг устига жарохатнинг контурлари туширилди, кейин олинган тасвирлар график қоғозга ўтказилди ва контурларнинг ўлчамлари 3, 12 ва 19 суткалар учун аниқланди. Экспериментнинг учинчи кунида ЖК аллергенлигини аниқлаш учун барча гуруҳ хайвонларининг думдаги венасидан кон аликвоталари олинди (ИФА усули). Жарохат етказилгандан сўнг 22-куни, терининг зарарланган қисмидан гисто-морфология учун олинган. Барча ЖКлари тажрибадаги хайвонларда аллергик реакция чақирмаслиги аниқланган. Коллаген асосидаги ЖК жарохатни даволаш муддатини 1,5 баробар қисқартириши, фибробластлар учун матрикс бўлган экзоген коллаген киритилиши сабаблидир (2-жадвал).

Жароҳат қопламалари композицияларининг жароҳат майдон юзасига таъсири ва тикланиш муддати (M ± m, n = 10, P < 0,05)

ЖҚ	Жароҳат майдонининг ўзгариши см ²			
	3- сутка	12-сутка	19-сутка	Жароҳатларнинг тўлиқ эпителизацияси, суткалар
RC	3,3±0,09	1,65±0,11	0,55±0,06	22,4±1,1**
Ru- RC	3,2±0,13	0,53±0,07	0,05±0,01	20,1±0,2*
F- RC	3,2±0,11	0,15±0,02	0	16,9±0,2*
K- RC	3,3±0,5	0,55±0,2	0	17,2±0,1*
AA- RC	3,7±0,5	0,93±0,2	0,62±0,04	23,0±0,3*
Назорат	3,9±0,14	1,95±0,16	0,98±0,09	28,9±0,6

Изоҳ: *P<0,001 назорат билан солиштирилганда; **P<0,002 назорат билан солиштирилганда

Инсон аралашувисиз тажриба йиринг жароҳатларнинг каламушларда тўлиқ эпителизацияси учун 28-29,5 кун керак бўлди, коллаген асосидаги ЖҚ ёрдамидаги терапияда йирингли жароҳатларнинг тўлиқ эпителизацияси 21,3–23,5 суткагача қисқарган, коллагенли қопламага пролифератор ва антимиқроб хусусиятли антиоксидант қўшилиши эпителизация муддатини 16,7–17,3 кунгача қисқартирди. Экзоген коллагеннинг киритилиши тўқима нуқсони ва хосил бўладиган чандикнинг кучини тезда йўқ қилишни таъминлайди, бу чандик тўқималарнинг шаклланишини гистологик ўрганиш маълумотларидан маълум.



3-расм Экспериментал хайвонлар терисининг чандикли қисмини гистологик баҳолаш. ГЭ билан бўялган, 20x10 кат.

3-гистологик расмда кўришиб турганидек: назорат (даволанмаган жароҳат) тўқималар олинган вақтида ўзгаришлар билан терининг яхлитлиги бузилган, эпидермис остида репарацион жараёнларга хос бўлган аниқ мононуклеар инфильтрация ва тўқима фибрози мавжуд, бу эса репарацион жараёнларга хосдир. K-RC- терининг яхлитлиги бузилмаган, дермис ва фолликулаларининг коллаген толалари эпидермис остида кўринади; F-RC–кератинизация билан эпидермис тўқимаси, дермис элементлари остида хусусиятларсиз аниқ кўринади; Ru-RC–дерма репарация элементлари билан, эпидермис бузилмаган; AA-RC - эпидерма атрофияли ва дерма репарация элементлари; RC-атрофияланган эпидермис ва дерма репарация элементлари билан фибробластлар пролиферацияси кўринишида

Энг самарали таъсирни F-RC ва K-RC ЖҚлари беради, теридан намуналар олинган вақтда тўқималарда эпителизация тўлиқ тугалланган, қолган гуруҳларда эса регенератив жараён давом этгани кузатилган, шунга

қарамай Ru-RC билан даволашда жароҳатлар визуал равишда тўлиқ эпителизация бўлган, аммо ички жараёнлар фаоллиги кузатилган.

Диссертация ишининг тўртинчи боби «Қорамол коллагени асосида жароҳат композицияларини олиш ва уларнинг регенератив фаоллигини куйиш жароҳат моделлари ёрдамида баҳолаш» га бағишланган. Ушбу бобда қорамол думлари пайларидан саноат миқёсида коллаген ишлаб чиқариш усулини ишлаб чиқиш, бир нечта ўрганилган БФКларни *ex situ* усули ва регенератив хусусиятларини баҳолаш орқали қорамол ва каламуш коллагенлари асосида янада мураккаб композициялар яратиш бўйича, *in vivo* усуллар билан олинган композицияларни куйиш жароҳат моделларидаги ўзгаришларимиз натижалари келтирилган. Саноатда қорамол думидаги пайлардан коллаген олиш учун ферментатив-кислотали усул қўлланилди, коллаген бўлмаган оксилларнинг гидролизи учун 0,25% ли трипсин эритмасидан, коллаген гидролизи учун - 0,1 Н сирка кислота эритмасидан фойдаланилди.

Каламуш ва қорамол коллагенига асосланган янги жароҳат қопламалари композицияларини яратиш. Диализланган коллаген эритмалари Петри идишларига (d=90 мм) 40 мл дан куйилди. Куришидан олдин коллагенга физик усул *ex situ* да турли доза ва комбинацияда БФК киритилди. Параллел равишда каламуш думларининг пайларидан ҳам коллаген олинган. ЖҚларининг эластиклигини ошириш мақсадида плёнкаларга 1%ли глицерин киритилди. Регенератив фаоллигини ва токсиклигини таққослаш мақсадида каламуш пайларидан олинган коллагенга асосланган куйидаги янги ЖҚ композициялари яратилди: RC-RC-*R.confertus* дан олинган экстрактли коллаген; RC-K-Ru-*S.japonica* дан олинган кверцетинли коллаген; RC-K-Ru-F-кверцетин, рутин ва филлалбин алколоиди билан; RC-қўшимчаларсиз, қорамол коллагени: CC-RC-RC экстрактли коллаген; CC-K-Ru-кверцетин ва рутинли коллаген; CC-K-Ru-F-кверцетин ва рутинли ва филлалбин алколоиди билан; CC-қўшимчаларсиз.

Қорамол ва каламуш коллагенига асосланган жароҳат қопламалари композицияларининг физик-кимёвий хусусиятларини баҳолаш. Янги ЖҚ композицияларини адгезия кучи, қалинлиги ва мустахкамлиги каби физик-кимёвий хусусиятлари ўрганилди, жумладан, юқоридаги хусусиятлар қиёсий жихатдан баҳоланди. Плёнкаларнинг қалинлиги микрометр асбоби ёрдамида турли жойларидан ўлчанди (n=6 мкм). Адгезия кучи ва мустахкамлиги Ньютонда (Н) аниқланган. Аниқланишича "NeuSkin-F" тижорат намунаси бизнинг плёнкаларга нисбатан деярли 2 баробар ($P \leq 0,001$) қалинроқ ва мустахкамроқ, аммо адгезия кучи жихатдан бизникидан икки баробар куйи. Қорамол коллагенига асосланган плёнкаларимиз ўрганилган барча хоссалари бўйича каламуш коллагенига асосланган пленкалардан устундир. Бундан ташқари коллагенга флавоноидлар қўшилиши NeuSkin-F билан солиштирилганда мустахкамлиги деярли 2,2 баробарга камайтиради, икки хилдаги коллаген билан солиштирилганда деярли 1,5 баробарга камайдир (3-жадвал).

Диаметри 90 мм бўлган Петри идишга гел кўринишидаги коллагенни 40 мл ҳисобида куйилгандан, олинган ЖКнинг физик-кимёвий кўрсаткичлари
($M \pm m$, $n=6$)

ЖҚ	Қалинлиги, мкм	Мустаҳкамлиги, Н	Адгезия кучи
RC	54,3±1,45**	49,7±1,86**	0,88±0,03*
RC-Rc	57,8±1,89**	53,2±1,3**	0,95±0,01*
RC-K-Ru	42,8±1,54**	35,7±2,12**	0,56±0,02
RC-F-K-Ru	55,8±1,6**	41,8±1,58**	0,79±0,02
CC-K-Ru	61,7±2,42**	51,7±1,89**	1,09±0,03*
CC-Rc	61,3±2,51**	50,5±1,61**	1,06±0,02*
CC-F-K-Ru	67,5±2,22**	55,7±1,71**	1,07±0,04*
CC	62,3±1,86**	58,0±2,05**	1,20±0,04*
NeuSkin-F	97,7±0,49	114,2±0,6	0,66±0,01

Изоҳ: ЖКсини тижорат намунаси "NeuSkin-F" билан солиштирилганда * $P \leq 0,002$, ** $P \leq 0,001$

Натижада ЖКларнинг куйидаги хоссалари ўрганилгандан сўнг, уларни ижобий фазилатларини камайиш тартибида жойлаштирган ҳолда келтириш мумкин, адгезия кучи бўйича-CC→CC-K-Ru→CC-K-Ru-F→CC-Rc→RC-Rc→RC→RC-K-Ru-F→"NeuSkin-F"→RC-K-Ru; мустаҳкамлиги бўйича-"NeuSkin-F"→CC→CC-K-Ru-F→RC-Rc→CC-K-Ru→CC-Rc→RC→RC-K-Ru-F→RC-K-Ru. Шунга қарамай, барча пленкалар кейинги тадқиқотлар учун танланган.

Куйган жароҳатларнинг экспериментал моделлари бўйича жароҳат қопламаларининг янги композицияларини биологик мувофиқлиги ва регенератив хусусиятларини баҳолаш. Янги композицияларнинг биомослиги *in vitro* усулда каламуш болаларининг тери дермисидан эксплантация усули билан олинган фибробласт хужайра культураларини пайвандлаш йўли билан баҳоланди. Хужайра культуралари 5 мартагача RPMI-1640, 10% бузоқнинг фетал зардоби билан пайвандланди. Хужайраларни трипсин/ЭДТА эритмаси ёрдамида ажратиб олинди ва 1 см² субстрат юза майдонига 20-22 минг миқдорда экилган, субстрат вазифасини Петри идишининг туб қисмидаги жароҳат қопламалари хизмат қилди, бир ҳафта давомида культивирланди, сўнгра тирик хужайралар сони neutral red усули билан баҳоланди. Аниқланишича, ўрганилаётган ЖКнинг бирортаси, жумладан "NeuSkin-F" савдо намунаси, статистик жиҳатдан ахамиятли ингибирламади ва пролифератив таъсирга олиб келмади, хужайралар жароҳат қопламасиз Петри идишда бўлгани каби икки баробар кўпайиб тўлиқ монослойга эришилди. Жароҳат қопламасининг специфик фаоллигини баҳолаш, ША даражали термик куйиш моделлари каламушларда ўтказилди. Бир хил ўлчамдаги ва чуқурликдаги 1,75x1,75 см хажмдаги жароҳатлар паялик мосламасига ўрнатилган мис пластинка ёрдамида амалга оширилди. Қўтирлар 40%ли салицил кислота билан олиб ташланди ва жароҳатга қопламалар қўйилди. Аниқланишича "NeuSkin-F" тижорат препарати жароҳат юзаси билан ёпишқоқлиги ва уйғунлиги ёмон эканлиги, бизнинг жароҳа қопламаларимиз дарҳол жароҳатга ёпишиб олдилар. RC-Rc, RC-K-

Ru, RC-K-Ru-F, CC-Rc, CC-K-Ru, CC-K-Ru-F аббревиатура номи остидаги ЖК жароҳатлар майдонинг 17,4-21,1 кунда, NeuSkin-F эса 22,1-22,9 кун ичида (4-жадвал).

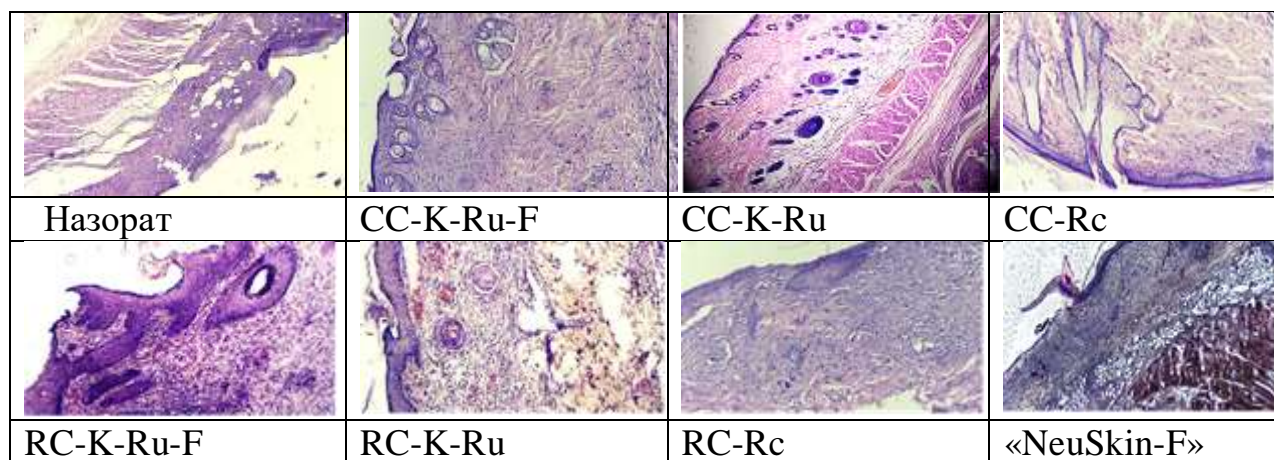
4-жадвал

Жароҳат қопламаларининг жароҳат соҳасига таъсири ва даволаш механизми (M±m, n=10)

Тажриба шартлари	Жароҳатнинг ўртача майдони, см ²				Жароҳат регенерациясининг муддати, суткалар
	3- сутка	9- сутка	15-сутка	18-сутка	Суткалар
RC-Rc	2,7±0,10	1,9±0,07	1,1±0,03	0,3±0,01	20,9±0,2**
RC-K-Ru	2,6±0,11	1,9±0,02	1,2±0,02	0,3±0,01	20,5±0,2**
RC-K-Ru-F	2,5±0,04	2,0±0,02	1,0±0,02	0,2±0,01	19,6±0,2**
CC-Rc	2,5±0,07	1,8±0,01	0,8±0,01	0,02±0,01	18,9±0,1***
CC-K-Ru	2,4±0,07	1,7±0,03	0,6±0,01	0,01±0,01	18,8±0,2***
CC-K-Ru-F	2,3±0,08	1,5±0,02	0,4±0,01	0	17,5±0,1***
NeuSkin-F	2,9±0,12	2,2±0,03	1,9±0,06	0,9±0,09	22,5±0,4*
Назорат	2,9±0,11	2,3±0,09	1,8±0,07	1,1±0,07	25,8±0,4

Изоҳ: *P < 0,05; ** P < 0,02 ва **** P < 0,001 назорат билан солиштирилганда

Бундан ташқари, коллагенига асосланган барча жароҳат қопламалари чандиқолди ва чандиқ зоналари репарациясига, архитектоникасини тўғри шакллантиришга олиб келди, бу эса гистоморфология маълумотлари билан тасдиқланган (4-расм).



4-расм. Тажирибадаги хайвонлар терисининг чандиқ қисми гистоморфологияси. ГЭ бўёғи. 10x10 катта.

4-расмдаги терининг гистоморфологик кўринишидан назорат (даволанмаган) тери участкасида аралашган грануляцион тўқима қоплама эпителий ва жароҳатли нуқсонни кузатиш мумкин; CC-K-Ru-F-Сосочковый ва ретикуляр дермис қатламлари яхши ажралиб турибди; CC-K-Ru-Эпидермис қатламли скуамоз кератинлаштирувчи эпителий билан ифодаланади. Дермиснинг ретикуляр қатлами эластик толалар билан ифодаланади, соч фолликулалари кўринади; CC-Rc, ҳам CC-K-Ru-F фақат, коллаген толаларининг кўпайиши шаклида компенсация белгилари мавжуд; RC-K-Ru-F-Гиперкератозли эпидермис, эрозияни алмаштириш билан гиперрегенератив реакция; RC-K-Ru -Эпидермис остида қон кетиш билан

эрозив очаг; RC-Rc-«NeuSkin-F»Дермиснинг ажралиши ва интеграл қатламнинг жароҳатли нуқсони. Энг самарали таъсир СС-К-Ru-F ва СС-К-Ru ЖКлари беради, тўқималардан намуна олиш вақтида эпителизация тўлиқ яқунланган, қолган гуруҳ хайвонларда эса регенератив жараён давом этади, шунга қарамай терининг куйган ва RC-K-Ru-F, СС-Rc билан даволанган қисмидан 20-суткада намуна олишда визуал равишда эпителизацияси кузатилди, аммо регенератив жараёнлар дермада давом этаётгани гистологик тасвирларда акс этган.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бора коллаген асосидаги жароҳат қопламаларининг янги композицияларига *ex situ* киритилган антимикроб, антиоксидант ўсимлик компонентлари пролифератори, хусусан алкалоидлар, флавоноидлар ва полифенол бирикмаларнинг экстрактлари олинди, бу эса коллагенли асосга кўп функциялилик беради, экспериментал йирингли ва куйиш жароҳатлар регенерациясини 1,73 ва 1,49 марта тезлаштирган.

2. Филлалбин (RC-F) ва кверцетин (RC-K) қўшилган каламуш коллагенига асосланган жароҳат қоплама терининг жароҳатларини даволашда самаралидир, шу билан бирга назорат гуруҳдаги даволанмаган жароҳатларга нисбатан йирингли жароҳатларнинг тикланишини 1,73 баробар тезлаштирди, бу филлалбиннинг антимикроб ва пролифератив хоссалари, кверцетиннинг антиоксидант хоссалари ҳамда ўринбосар самарага эга экзоген коллаген билан боғлиқ.

3. СС-К-Ru-F–қорамол коллагенга асосланган *S.japonica* флавоноидлари ва филлалбинли пленкалар куйган жароҳатлар терапияси учун анча самарали; юқори конгруэнтликка ва жароҳат ўрни юза адгезиясига эга ва даволанмаган куйган жароҳатларга нисбатан 1,49 баробар тезроқ тиклайди.

4. СС-Rc–полифенол бирикмалар *R.confertus* экстрактли қорамол коллагенига асосланган плёнкалар жароҳат ўрнига ёпишиши ва конгруэнтлиги юқори даражада ва даволанмаган куйган жароҳатларга нисбатан 1,34 баробар тезроқ тиклайди, бу антимикроб, яллиғланишга қарши, регенератив хусусиятли ва ўринбосар самарага эга экзоген коллаген билан изоҳланади.

5. NeuSkin-F" тижорат қопламаси (Eucare Pharmaceuticals (P) Limited, Hindiston) олинган жароҳат қоплама композицияларига нисбатан специфик фаоллиги сузлиги, жароҳат ўрнига ёпишиши ва конгруэнтлиги куйи даражада эканлиги аниқланган.

6. Ишлаб чиқилган жароҳат қоплама композициялари полифункционал, токсик эмас, маҳаллий тирнаш хусусиятига эга эмас, гистологикмос, гипоаллерген. Клиник фойдаланиш учун хавфсизлиги турли хил гел кўринишдаги композицияларнинг юқори дозаларда (5000 мг/кг) узоқ муддатли *per os* юбориш ва морфологик тадқиқотларимиз билан тасдиқланган.

**РАЗОВЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 ПРИ
ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ
УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАН ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ
СТЕПЕНЕЙ**

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

АБИДОВА АЗИЗА ДЖАЛИЛОВНА

**СОЗДАНИЕ КОМПОЗИЦИЙ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ С
РЕГЕНЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

03.00.11 – Гистология, цитология и клеточная биология

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент-2021

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2020.2.PhD/B458.

Диссертация выполнена в Ташкентской Медицинской Академии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском и английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.ibb-nuu.uz) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель:

Цеомашко Наталья Евгеньевна
доктор биологических наук

Официальные оппоненты:

Шахмурова Гульнара Абдуллаевна
доктор биологических наук, профессор

Хашимова Зайнат Саттаровна
доктор биологических наук

Ведущая организация:

Ташкентский фармацевтический институт

Защита диссертации состоится «21» апреля 2021 г. в 14:00 часов на заседании Разового научного Совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 при Институте биофизики и биохимии при Национального университета Узбекистана по присуждению ученых степеней. (Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел. 246-68-96.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института Биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана (зарегистрированной за №____). Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел: (99871) 246-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru

Автореферат диссертации разослан: «__» _____ 2021 года.
(реестр протокола рассылки № «__» от _____ 2021 года).

Сабилов Равшан Заирович

Председатель разового Научного Совета по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

Позилов Маъмуржон Комилжонович

Ученый секретарь разового Научного Совета по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

Ахмеджанов Искандар Гулямович

Председатель разового Научного Семинара при Научном совете присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Одной из актуальных проблем мировой медицины и фармакологии остается разработка и создание лекарственных форм для терапии ран различного генеза, так как к раневым покрытиям предъявляется широкий спектр требований охватить которые могут только полифункциональные покрытия. Так, раневые покрытия с наилучшим регенеративным эффектом должны обладать биоразлагаемыми, биосовместимыми, не токсичными, не пирогенными, не аллергенными, с высокой абсорбционной способностью, адгезией к раневому ложе, протекцией к микроорганизмам, быть проницаемыми для газов, паров воды и другими свойствами.

Ведущие мировые исследовательские центры проводят интенсивные научные исследования по созданию полифункциональных раневых покрытий. Однако, несмотря на все усилия, ни одно из доступных в настоящее время перевязочных материалов не сочетает в себе все указанные выше требования. Следовательно, необходимы дальнейшие исследования в данной области.

В настоящее время в нашей стране проведены широкомасштабные меры по созданию новых импортозамещающих лекарственных средств на основе местного сырья и дальнейшему развитию фармацевтической промышленности. Отечественных разработок в области постоянных и полифункциональных покрытий для ран на основе коллагена отечественная фармацевтическая промышленность не выпускает. В Стратегии действий развития Республики Узбекистан определены важные задачи по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, медицинских учреждений и улучшению обеспечения населения доступными качественными лекарственными средствами и медицинскими изделиями¹. Исходя из этих задач, разработка и создание отечественных полифункциональных постоянных раневых покрытий с регенеративной и противомикробной активностями будет иметь несомненно важное значение в терапии ран различной этиологии и импортозамещении.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, Постановлении Президента Республики Узбекистан от 14 февраля 2018 г № ПП-3532 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли» и Постановлении Президента Республики Узбекистан от 6 мая 2019 г № ПП-4310 «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики. Данное исследование выполнено в

¹ Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан». р№ УП-4947.

соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологии республики VI «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. На сегодняшний день только за 2020 год в базе данных PubMed насчитывается более пяти тысяч наименований новых исследований и разработок раневых покрытий на основе коллагена. Коллагеновые раневые покрытия это и гидрогели коллагена с антибиотиками (Ghica M.V. et al. 2011), и комплексы коллагена с биологически активными компонентами (Mitra T. et al. 2011, Berechet MD et al. 2020), и каркасы из электроформованных коллагеновых нановолокон (Fullana M.J. et al. 2012), и биологические заменители кожи такие как Biobrane®, Integra®, Apligraf® и Transcyte® (Zhong S.P. et al. 2010), и двухслойные коллагеновые мембраны с фибриновым клеем (Richter M. et al. 2020), и гибрид коллагена с трифункциональным полиуретаном (Claudio-Rizo JA. et al. 2020), и пленки на основе хитозана/коллагена (Andonegi M. et al. 2020, Cao J. et al. 2020) и многое другое.

В странах СНГ в промышленных масштабах получают коллаген (Kukhareva L.V. et al. 2010, Кауламбаева М.З., 2010) и разнообразную продукцию на его основе, в том числе раневые покрытия и ткане-инженерные конструкции.

В нашей стране данной проблемой занимаются ученые в Институте Биоорганической химии, где коллаген выделяли для формирования каркасов, коллагеновых губок для покрытия ран (Раджабов О.И. и соав. 2011), в Институте химии и растительных веществ Цеомашко Н.Е. и Азимова Ш.С., выделяли коллаген и использовали для создания дермальных эквивалентов кожи для заместительной терапии (2012).

Связь темы диссертации с планами научно-исследовательских работ научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы прикладного проекта № ПЗ-2017092910 Ташкентской медицинской академии на тему «Разработка полупроницаемых и биodeградируемых раневых покрытий для лечения повреждений кожных покровов и мягких тканей различного генеза» (2018-2020).

Целью исследования является создание новых композиций биоразлагаемых, биосовместимых, полифункциональных раневых покрытий на основе коллагена с биологически активными компонентами природного происхождения с антимикробной, антиоксидантной и регенеративной активностью.

Задачи исследования:

отбор биологически активных компонентов (алкалоиды, флавоноиды, растительный экстракт) с антимикробной, пролиферативной и антиоксидантной активностью для будущих композиций, выявление активных концентраций;

получение коллагена из сухожилий хвостов крыс, создание простых композиций раневых покрытий, оценка токсичности, физико-химических свойств и регенеративной активности;

получение коллагена из сухожилий крупного рогатого скота с целью перевода исследований по наработке коллагена в промышленные масштабы; создание сложных композиций раневых покрытий на основе крысиного, коровьего коллагенов и биологически активных компонентов, оценка физико-химических свойств, токсичности и регенеративной активности.

Объектами исследования являются коллаген, выделенные методами белковой химии, алкалоиды, флавоноиды, экстракт растений, первичные культуры клеток фибробластов, штаммы грамм-положительных (*B.subtilis* и *S.aureus*) и грамм-отрицательных (*P.aeruginosa* и *E.coli*) бактерий и грибка *C.albicans*; кролики, крысы, их органы и биологические жидкости.

Предметом исследования являются цитотоксическая, пролиферативная, антибактериальная, противогрибковая, антиоксидантная, противоязвенная и регенеративная активности композиций раневых покрытий и их компонентов, физико-химические свойства, острая и хроническая токсичность, ранозаживляющий эффект покрытий.

Методы исследования. При выполнении работы использовались методы клеточной биологии (получение культур клеток и скрининг цитотоксичности), методы белковой химии (выделение и очистка белка), методы биохимии (neutral red-тест, определение количества МДА, активности каталазы, щелочной фосфатазы, АлТ, АсТ и др.), физико-химические методы (толщина, прочность, сила адгезии), методы фармако-токсикологии (оценка токсичности острой и хронической, кожно-резорбтивного и др. действия), методы гисто-морфологии (оценка морфологии органов экспериментальных животных и гистологии их органов и тканей), методы иммунологии (ИФА-метод). Математическая и статистическая обработка данных была проведена с помощью компьютерной программы Origin версии 7.5 (OriginLab).

Научная новизна исследования представлена следующим:

впервые получены новые композиции полифункциональных, биосовместимых, биоразлагаемых, не токсичных раневых покрытий на основе коллагена в комплексе с биологически активными компонентами растительного происхождения, такими как алкалоид филлальбин, флавоноид кверцетин, гликозид кверцетина рутин и экстракт из *R.confertus*;

определены наиболее эффективные концентрации биологически активных компонентов для раневых покрытий: 12,5-25 мкг/мл филлальбина вызывают пролиферацию фибробластов, 150 мкг/мл кверцетина и рутина, вызывают антиоксидантный и противоязвенный эффект, 50 мкг/мл экстракта *R.confertus*, стимулируют пролиферацию фибробластах и угнетают рост патогенных микроорганизмов;

установлены, наиболее активные композиции с антимицробной, антиоксидантной и регенеративной активностью, позволяющие в 1,49 - 1,73 раза ускорять регенерацию гнойных и ожоговых ран;

дана сравнительная характеристика композиций раневых покрытий, как на основе крысиного коллагена, так и коровьего коллагена с точки зрения

физико-химических, фармако-токсикологических и медико-биологических показателей;

Практические результаты исследования заключаются в следующем: Новые полифункциональные композиции раневых покрытий на основе отечественного сырья эффективны в терапии гнойных и ожоговых ран, а также язв, соответствуют широкому спектру требований к раневым покрытиям, являются не токсичными, гистосовместимыми, гипоаллергенными, биоразлагаемыми, что подтверждено полным спектром доклинических исследований.

Достоверность результатов исследования. Результаты обосновываются использованием современных клеточных технологий, гистологических, биохимических, фармако-токсикологических и физико-химических методов проанализированы с использованием современных аналитических и статистических методов. Это подтверждается экспертными заключениями специалистов, а также обсуждениями на национальных и международных научных конференциях, опубликованностью материалов в рецензируемых научных журналах, кроме того, в Агентство интеллектуальной собственности Республики Узбекистан поданы заявки на 2 патента.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования заключается в том, что введение в коллаген *ex situ* филлальбина, кверцетина, рутина и экстракта *R.confertus* позволяет получать раневые покрытия плёночного типа с хорошей полифункциональной, регенеративной активностью, сохраняя хорошие медико-биологические и физико-химические свойства.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что полученные новые композиции раневых покрытий прошли основную часть доклинических исследований, где подтверждена их полифункциональная активность, гистосовместимость, не токсичность и хорошая регенеративная активность в результате чего, данные препараты могут быть рекомендованы для клинических исследований с последующим внедрением в отечественную фарминдустрию, как высокоэффективные и конкурентоспособные препараты для терапии гнойных, ожоговых и хронических ран.

Внедрение результатов исследования. На основании результатов, полученных при создании композиций полифункциональных раневых покрытий на основе коллагена с биологически активными компонентами обладающими регенеративной активностью:

гастропротекторное действие биологически активных компонентов доказано на моделях язв желудка экспериментальных животных и использовано в инновационном проекте № И-6-ФА-ТОЗ1 «Организация серийного производства биологически активной добавки «Равонол» с расслабляющими свойствами» (Справка Академии наук Республики Узбекистан № 4/1255-2195 от 14 октября 2020 года), в результате показано,

что этот препарат может быть полезен для медицины, как средство обладающее противоязвенным действием;

лечебное действие биологически активных компонентов на раны различного генеза (гнойные раны, ожоги) внедрены в инновационный проект И-6-ФА-ТО31 «Организация серийного производства биологически активной добавки «Равнол» с расслабляющими свойствами (Справка Академии наук Республики Узбекистан №4/1255-2195 от 14 октября 2020 года). В результате удалось использовать этот препарат в медицине как средство регенерирующего действия.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований по теме диссертации прошли апробацию в 5 международных и 3 республиканских научных конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 14 научных работ, из них 6 научных статей, в том числе 3 в международных и 3 в республиканских журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения, списка использованной литературы. Объём диссертации составляет 120 страницы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и востребованность, цель и задачи темы диссертации, характеризуются объект и предмет проведенного исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Обзор литературы по терапии ран и раневым покрытиям**» подробно изложен обзор зарубежной и отечественной литературы по разнообразию ран, раневых инфекций, осложнений, дана этиология и нозология повреждений тканей и способы терапии, изложены требования, предъявляемые к раневым покрытиям и разнообразие современных раневых покрытий и исследований в данном направлении.

Во второй главе диссертации «**Материалы, условия и методы белковой химии, гистологии и клеточной биологии**» приведена экспериментальная часть, в которой даны характеристики использованных реактивов и методики по получению коллагена и раневых покрытий на его основе, методы оценки цитотоксичности, токсичности, регенеративной, пролиферативной и других активностей.

Третья глава диссертации посвящена «Получению композиций раневых покрытий на основе крысиного коллагена и оценки их регенеративной активности на моделях гнойных ран». В главе представлены результаты собственных исследований по получению коллагена из сухожилий крысиных хвостов в лабораторных условиях, по отбору биологически активных компонентов (БАК) для композиций раневых покрытий (РП) с антимикробной, пролиферативной и антиоксидантной активностями и создание простых композиций РП на основе крысиного коллагена и введённого в него *ex situ* БАК. Коллаген выделен методом кислотной экстракции из сухожилий крысиных хвостов с использованием 0,1N раствора уксусной кислоты, сконцентрирован центрифугированием и диализован против воды.

Для отбора наиболее активных БАК использованы первичные культуры клеток фибробластов для оценки пролиферативных свойств БАК колориметрическим методом *neutral red* и цитотоксичности *in vitro*; антимикробная активность оценена методом лунок по Егорову с использованием условно-патогенных штаммов микроорганизмов, предоставленных НИИЭМИЗ МЗ РУз; антиоксидантная и противоязвенная активность флавоноидов установлена методами *in vivo* на экспериментальных стресс- и индометацин-индуцированных моделях язв желудка; острая и хроническая токсичность БАК проведена методами *in vivo*.

В качестве БАК были изучены: субстанция препарата «Консубин»-смесь двух алкалоидов: конвольвина и конволамина (Ko), а также индивидуальное соединение-алкалоид филлальбин (F). Данные препараты, выделены из растений рода *Convolvulus* (*C. subhirsutus*, *C. krauseanus*) в лаборатории алкалоидов ИХРВ, под руководством проф. Ариповой С.Ф.

флавоноиды-кверцетин (K) и его гликозид-рутин (Ru), выделенные из бутонов *S. japonica* в ФарМи МЗ РУз и предоставлены для исследований Махмудовым С.Д.; сухой экстракт полифенольных (дубильных) соединений, выделенный из наземной и корневой частей растения *Rumex confertus* с антимикробной активностью (Rc). Экстракт выделен и изучен на токсичность и антимикробную активность в ИБОХ АН РУз Махмудовым С.Д.

коммерческий препарат «NeuSkin-F» (Eucare Pharmaceuticals (P) Limited, India)-раневое покрытие на основе коллагена без добавок в качестве препарата сравнения.

Оценка цитотоксичности и острой токсичности биологически активных компонентов. Оценка цитотоксичности и пролиферативной активности БАК проведена на первичных культурах клеток кожи-фибробластов, полученных из дермы новорожденных крысят. БАК исследованы в концентрациях 0,78-200 мкг/мл. В результате установлено, что все БАК в дозе ниже 50 мкг/мл в той или иной степени стимулируют фибробласты к пролиферации. IC₅₀ установлена для Rc и составляет 150 мкг/мл, IC₅₀ для Ko равна 100 мкг/мл, а для всех остальных БАК IC₅₀>200 мкг/мл (см. табл. 1.). Суточное воздействие на клетки кожи данных БАК в концентрациях от 0,78-200 мкг/мл приводит к значительным изменениям

пролиферативной активности фибробластов, при этом алкалоид филлальбин вызывает наибольшие всплески пролиферации из всех препаратов, пики пролиферации наблюдаются при концентрации 1,5 мкг/мл и 12,5–25 мкг/мл ($P \leq 0,001$).

Таблица 1

Процент живых клеток фибробластов, после 24 часового воздействия на фибробласты исследуемых веществ в разных концентрациях

Вещ-ва мкг/мл	Процент живых клеток фибробластов, после воздействия веществ				
	Филлальбин	Кверцетин	Консубин	Экстракт Rс	Рутин
0,8	116,8±1,01	125,5±1,15*	98,5±1,09	115,2±1,42	118,0±1,24*
1,6	166,7±2,03**	122,2±1,54*	110,0±1,39	110,5±1,93	94,2±2,33
3,1	93,7±1,36	115,7±1,89	66,2±1,30	103,8±0,99	96,7±0,97
6,2	115,8±2,12	110,2±1,64	104,0±1,71	107,3±1,22	100,5±1,95
12,5	179,3±1,93**	111,0±2,31	108,2±1,78	134,8±1,78	97,5±1,89
25	124,0±1,51*	135,0±1,83*	117,8±1,35	126,2±1,80*	103,5±1,69
50	83,8±2,27*	136,0±1,59*	96,2±1,87	147,0±1,88**	97,3±1,63
100	68,5±1,98*	76,8±1,66*	51,2±2,04**	58,0±2,68**	80,2±2,30*
200	71,8±1,19*	67,3±1,94*	39,3±1,23**	42,7±1,87**	66,8±1,58*

Примечание: по сравнению с интактными клетками, жизнеспособность которых принимается за 100% * $P \leq 0,05$, ** $P \leq 0,001$

В то время, как известный антиоксидант–флавоноид кверцетин вызывает не значительный, но равномерный пролиферативный эффект в концентрациях ниже 50 мкг/мл. Всплеск пролиферативной активности показал и антимицробный экстракт Rс в концентрации 25–50 мкг/мл. Изучение острой токсичности суммы алкалоидов (конвольвина, конволамина) и индивидуального алкалоида филлальбина, проведено на крысах с массой тела 138-160 г. Концентрации алкалоидов от 3,12 до 200 мг/кг вводили однократно внутривенно (в/в) и подкожно (п/к). Установлено, что для суммы алкалоидов $LD_{50} = 25$ мг/кг (в/в) и 50 мг/кг (п/к), а для филлальбина $LD_{50} = 150$ мг/кг (в/в) и 200 мг/кг (п/к). Сухой экстракт Rс из растения *Rumex confertus* в исследованиях по острой токсичности даже в дозе 5000 мг/кг при пероральном приеме не вызывал гибели экспериментальных животных и отнесён к 5 классу опасности–практически нетоксичным веществам, но в экспериментах *in vitro* IC_{50} установлено, а значит данный экстракт попадая в кровь через желудочно-кишечный тракт претерпевает значительные модификации и становится менее токсичным. Для флавоноида кверцетина и его гликозида рутина оценку острой токсичности не проводили, так как из литературных данных известно о их низкой токсичности и их $LD_{50} > 5000$ мг/кг.

Оценка хронической токсичности биологически активных компонентов. Изучена субхроническая токсичность алкалоидов-суммы алкалоидов и индивидуального алкалоида филлальбина. Опыты проводили на крысах массой 150-160г. Растворы алкалоидов вводили в желудки крыс ежедневно в дозах 5, 10 и 50 мг/кг в течение одного месяца. После последнего введения алкалоидов у всех групп животных из хвостовой вены, путём частичной резекции, были взяты аликвоты крови для определения развернутых

показателей на гематологическом анализаторе BC-3000 (Mindray, P.R.China). Под эфирным наркозом у животных, путем декапитации, собирали кровь для биохимических исследований и органы для морфологических исследований. Биохимические показатели сыворотки крови определяли унифицированными методами с использованием наборов реактивов (фирмы CYPRESS Diagnostics, Бельгия) на биохимическом анализаторе BA-88 A (Mindray, P.R.China). Установлено, что длительное пероральное применение изученных алкалоидов в низкой дозе, хорошо переносятся подопытными животными. Гематологические и биохимические показатели крови крыс, принимавших изучаемые препараты в дозах 5-10 мг/кг, находились в пределах показателей интактной группы животных, но с повышением дозы показатели сдвигались в сторону патологии, так показатели активности ферментов- щелочной фосфотазы, АсТ и АлТ достоверно увеличивались ($P < 0,002$) у животных принимавших в течение месяца сумму алкалоидов (конвольвина, конволамина) в дозе 50 мг/кг, увеличивался также и холестерин в крови ($P < 0,05$), в то время как показатель общего белка снижался ($P < 0,05$), что свидетельствовало о сбоях в работе органов пищеварительного тракта и кумулятивном эффекте алкалоидов. В этой связи использовать дозу 50 мг/кг сумм алкалоидов в терапии не желательно, и максимальная доза не должна превышать 10 мг/кг. Филлальбин в дозе до 50 мг/кг безопасен даже при внутривенном введении. Для флавоноида кверцетина и его гликозида рутина оценку хронической токсичности не проводили, так как из литературных данных известно, что ежедневный пероральный прием в течение 3 недель данных фенольных соединений в дозах 500 мг/кг в экспериментах хронической токсичности на собаках и крысах не вызывало патологических отклонений в органах и биологических жидкостях животных.

Оценка антимикробной активности биологически активных компонентов. Приготовленные взвеси исследуемых штаммов микроорганизмов засеяны методом «газона» на поверхность питательного агара в чашках Петри. На поверхность засеянного питательного агара наносили исследуемые вещества в объеме 0,05 мл из каждого разведения. Через сутки инкубации производили замер диаметров зон подавления роста микроорганизмов (d) и подсчет минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Установлено, что сумма алкалоидов подавляла рост *E.coli* (d=25 мм) при МИК 5%, *S.epidermidis* и *C.albicans* (d=20 мм) при МИК 2,5% и 1,25 %, соответственно. Филлальбин также подавлял рост микроорганизмов, но в высоких концентрациях, чем исследуемая сумма алкалоидов. Филлальбин подавлял рост *E.coli* (d<20 мм) при МИК 5%, *S.epidermidis* и *C.albicans* (d<20 мм) при МИК 10% и 2,5%, соответственно. Рутин в концентрациях 25-200 мкг/мл ингибировал рост *E.coli* NC101 и *S.aureus* 60 (d=11 мм), в концентрации 25 мкг/мл подавлял рост *E.faecalis* OGIFR1 (d=19мм), а в концентрации 12,5 мкг/мл-рост *K.pneumoniae* B-1823 (d=11мм). Таким образом, алкалоид филлальбин и флавоноид рутин проявляют антимикробную активность и при этом филлальбин стимулирует пролиферацию фибробластов, а рутин, как известно, является

антиоксидантом. Сухой экстракт *R.confertus* по данным Махмудова С.Д. также обладает антимикробной активностью и в концентрациях 50 - 100 мг/мл ингибирует рост *B.subtilis* 5, *E.coli*, *P.aeruginosa* и *S.aureus* (d=18-25мм).

Оценка антиоксидантной и противоязвенной активности флавоноидов. Повреждение слизистой оболочки-распространённая патология. Есть данные о гастропротекторной, антиоксидантной, гепатопротекторной, капилляропротекторной, противовоспалительной и антигистаминной активности флавоноида кверцетина. В этой связи актуально исследовать антиоксидантную и гастропротекторную активность отечественных флавоноидов кверцетина и его гликозида рутина. Для этого были созданы экспериментальные стресс- и индометацин индуцированные модели язв желудка на крысах, где крысам опытных групп за 9 дней до моделирования ежедневно перорально вводили флавоноиды в дозах 150 мг/кг, а контрольным животным – воду. Аликвоты крови брали на определение количества малонового диальдегида (МДА) и активности каталазы, а желудка для подсчёта язв. В результате эксперимента установлено, что у крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу в течение 24 часа, отмечалось выраженное повреждение слизистой желудка проявляющихся в образовании мелкоточечных, круглых и овальных форм дефектов (рис. 1, А).

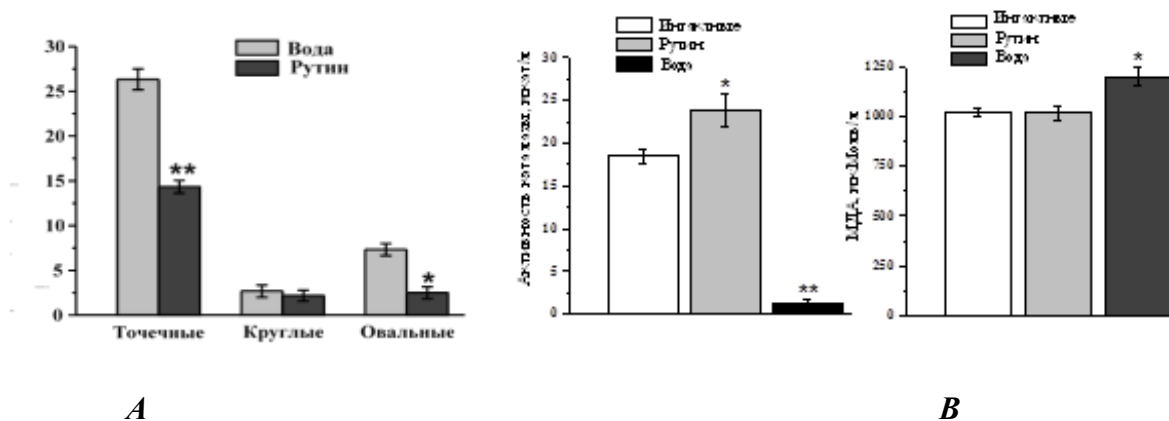


Рис. 1. А-число язв желудка в экспериментальной модели язв, индуцированных иммобилизационным стрессом, леченных рутином по сравнению с показателями животных, леченных водой *P≤0,01; **P≤0,001; В- Активность каталазы и количество МДА в сыворотке крови животных экспериментальной модели язв, индуцированных иммобилизационным стрессом и леченных рутином: статистическое отклонение значений по сравнению с показателями интактных животных *P≤0,005; **P≤0,001.

Общая поверхность поражения составляла более 10% поверхности желудка. При этом наиболее часто отмечалось наличие мелкоточечных и овальных форм повреждения. У животных получивших рутин отмечалось значительное (*P≤0,01; **P≤0,001) уменьшение площади повреждения слизистой желудка. Кроме того, установлено, что рутин активизирует фермент каталазу и снижает количество МДА в опытных группах экспериментальных

животных, что позволяет также нейтрализовать негативные факторы иммобилизационного стресса (рис. 1. В).

Флавоноид кверцетин также проявлял гастропротективный эффект, так как на фоне приёма данного препарата у животных отмечалось меньшее число изъязвлений слизистых желудка (рис.2), повышение активности каталазы и снижение количества МДА (P≤0,001) в сыворотке крови (рис. 2, А, В) в модели индометацин индуцированных язв желудка.

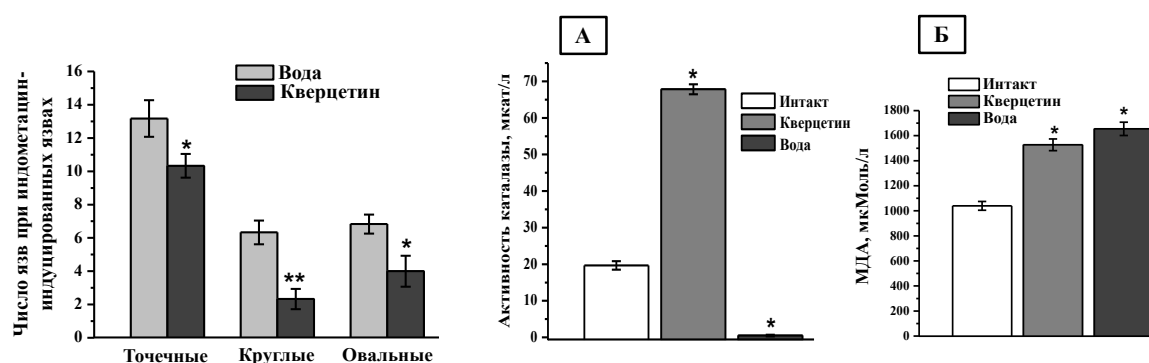


Рис. 2. Число язв желудка в экспериментальной модели язв, индуцированных индометацином: статистическое отклонение значений по сравнению с показателями животных, леченных плацебо (водой)*P≤0,05; **P≤0,01; А - активность каталазы и Б - количество МДА в сыворотке крови животных экспериментальной модели язв, индуцированных индометацином: статистическое отклонение значений по сравнению с показателями интактных животных *P≤0,001.

Таким образом, флавоноид кверцетин и его гликозид рутин, выделенные из бутонов японской сафоры *S.japonica* в ФарМИ МЗ РУз обладают гастропротективными, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, что важно при терапии ран различной этиологии и их активность проявляется в концентрации 150 мкг/мл, что эквивалентно дозе 150 мг/кг.

Получение композиций раневых покрытий, и оценка их физико-химических, медико-биологических и токсикологических свойств. Из части очищенного диализом гелеобразного коллагена, выделенного из сухожилий крысиных хвостов (RC) созданы разновидности РП плёночного типа по 6 экземпляров (45 мм²) с БАК, такими как кверцетин (К-RC), филлальбин (F-RC), консубин (Ко-RC), рутин (Ru-RC) и раствор антибиотика – антимикотика, содержащего 10000 Ед пенициллина и 10 мг/мл стрептомицина и 25 мг/мл амфотерицина В в 0,9% физ растворе (АА- RC), а также без добавки (RC). В чашки Петри гелеобразный коллаген с БАК и без БАК заливали по 20 мл на чашку Петри (с диаметром 90 мм) и по 40 мл. БАК вводились в гель *ex situ* физическим методом в активных концентрациях (F-12,5 мкг/плёнку, К и Ru по 150 мкг/плёнку, Ко-10 мкг/плёнку, АА-из расчёта 1%). В состав геля вводили 1% медицинского глицерина для эластичности плёнок. Высушивание проводили при комнатной температуре в условиях ламинарного бокса, для ускорения процесса применяли пары аммиака. В результате гель Ко-RC (с консубином) не полимеризовался и исключен из дальнейших исследований. Полученные плёнки (RC, К-RC, F-RC, Ru-RC и

АА- RC), изучены на физико-химические свойства, такие как сила адгезии, толщина и прочность. РП с флавоноидами оказались менее прочными и обладали меньшей силой адгезии по сравнению с просто коллагеновой плёнкой. Заливка в чашки Петри коллагенового геля в объеме 40 мл придавало прочность плёнкам и толщину, а также не значительно, но увеличивала и силу адгезии.

Оценка регенеративных свойств композиций раневых покрытий на экспериментальных моделях гнойных ран. Модели гнойных ран смоделированы на беспородных белых крысах самцах массой 150-170 гр. Крыс разделили на 6 групп по 6 крыс в каждой группе. Операции проводены под эфирным наркозом. На дипиллированных участках спинок животных по трафарету формировали полнослойные кожные раны, размером 2,0 x 2,0 см. В каждую рану вносили по 0,2 мл смеси, содержащей микроорганизмы штаммов: №9572 *S.albicans Berkant*, №М-3-87 *S.epidermitis*, №АТСС 25922 *E.coli* в концентрации 1×10^5 микробных тел/мл. Терапию ран производили на третий день, после визуального определения наличия у всех экспериментальных животных гнойных ран. Для оценки скорости заживления гнойных ран использовали планиметрические методы для этого на рану накладывали стерильную пластину целлофана, на которую наносили контуры раны, а затем ее изображение переносили на миллиметровую бумагу и определяли размеры контуров на 3, 12 и 19 сутки. На третьи сутки эксперимента у всех групп животных из хвостовой вены были взяты аликвоты крови для определения аллергенности РП (методом ИФА). На гисто-морфологию участки пораженной кожи были изъяты на 22-е сутки, после нанесения ран. Установлено, что все РП не вызывали аллергических реакций у экспериментальных животных. РП на основе коллагена в 1,5 раза сокращали сроки заживления ран за счёт введения экзогенного коллагена-матрикса для фибробластов (см. табл. 2).

Таблица 2

Влияние композиций раневых покрытий на изменение площади ран и сроков заживления (M ± m, n = 10, P <0,05)

РП	Изменение площади ран в см ²			Сроки регенерации ран, сутки
	3 сутки	12 сутки	19 сутки	
RC	3,3±0,09	1,65±0,11	0,55±0,06	22,4±1,1**
Ru- RC	3,2±0,13	0,53±0,07	0,05±0,01	20,1±0,2*
F- RC	3,2±0,11	0,15±0,02	0	16,9±0,2*
K- RC	3,3±0,5	0,55±0,2	0	17,2±0,1*
АА- RC	3,7±0,5	0,93±0,2	0,62±0,04	23,0±0,3*
Контроль	3,9±0,14	1,95±0,16	0,98±0,09	28,9±0,6

Примечание: *P<0,001 по сравнению с контролем; **P<0,002 по сравнению с контролем.

Для полной эпителизации экспериментальных гнойных ран без вмешательства человека крысам потребовалось 28–29,5 суток, в то время как терапия гнойных ран РП на основе коллагена сократила сроки полной эпителизации ран до 21,3–23,5 суток, а внесение в коллагеновое покрытие

пролифераторов и антиоксидантов с антимикробными свойствами сокращает сроки эпителизации до 16,7–17,3 суток. Введение экзогенного коллагена обеспечивает скорую ликвидацию тканевого дефекта и прочность формирующегося рубца, о чем свидетельствуют данные гистологического изучения формирования рубцовой ткани (см. рис. 3).

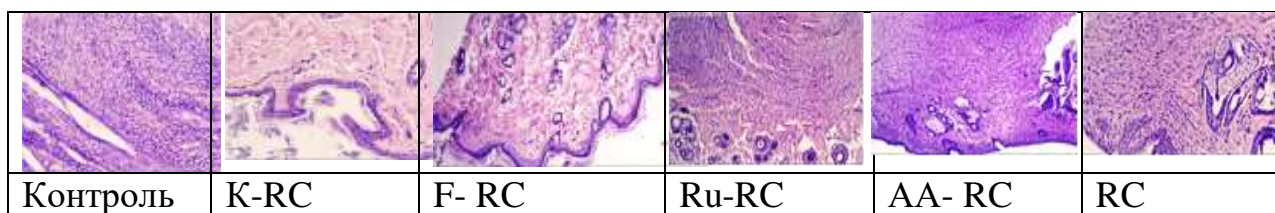


Рис. 3. Гистологическая оценка рубцовой части кожи экспериментальных животных. Окраска ГЭ. Ув. 20x10.

Как видно из гистограммах рисунка 3: контроль (нелеченные раны) на срок изъятия тканей представлен нарушениями в целостности кожного покрова, где под эпидермисом определяется выраженная мононуклеарная инфильтрация и фиброзирование ткани, что характерно для репаративных процессов; K-RC - целостностью кожного покрова, под эпидермисом видны коллагеновые волокна дермы и фолликулы; F-RC—ороговевшим эпидермисом и дермой без особенностей; Ru-RC—дермой с элементами репарации, эпидермис не нарушен; AA-RC - эпидермой с атрофией и дермой элементами репарации; RC-атрофированным эпидермисом и дермой с элементами репарации в виде пролиферации фибробластов. Таким образом, наилучший эффект дают раневые покрытия F-RC и K-RC, эпителизация к моменту изъятия образцов ткани полностью завершена, в то время как в остальных группах регенеративный процесс ещё отмечается, тем не менее раны обработанные Ru-RC полностью эпителизированы визуально, но внутри процессы ещё активны.

Четвёртая глава диссертации посвящена **«Получению композиций раневых покрытий на основе коровьего коллагена, и оценки их регенеративной активности на моделях ожоговых ран»**. В главе представлены результаты собственных исследований по отработке способа получения коллагена в промышленных масштабах из сухожилий хвостов крупного рогатого скота (КРС), по созданию более сложных композиций на основе коровьего и крысиного коллагенов с включением в их состав нескольких изученных БАК методом *ex situ* и оценки регенеративных свойств, полученных композиций на моделях ожоговых ран методами *in vivo*. Для промышленного способа получения коллагена из сухожилий хвостов КРС был использован ферментно-кислотный способ выделения, где для гидролиза неколлагеновых белков использовали 0,25% раствор трипсина, а для гидролиза коллагена – 0,1N раствор уксусной кислоты.

Создание новых композиций раневых покрытий на основе крысиного и коровьего коллагенов. Диализованные растворы коллагена наносили по 40 мл на чашки Петри (d=90мм). Перед высушиванием в коллаген вносили *ex situ* физическим методом БАК. Параллельно для сравнения получали коллаген и

из крысиных хвостов. В состав плёнок внесён 1% глицерина для повышения эластичности РП. Созданы новые композиции РП на основе крысиного коллагена: RC-Rc–коллаген с экстрактом *R.confertus*; RC-K-Ru–коллаген с кверцетином из *S.japonica*; RC-K-Ru-F - коллаген с кверцетином, рутином и алкалоидом филлальбином; RC–без добавок, и из коровьего коллагена: CC-Rc–коллаген с экстрактом Rc; CC-K-Ru –коллаген с кверцетином; CC-K-Ru-F –коллаген с кверцетином, рутином и филлальбином; CC– без добавок.

Оценка физико-химических свойств новых композиций раневых покрытий на основе коровьего и крысиного коллагенов. Новые композиции РП изучены на физико-химические свойства, такие как сила адгезии, толщина и прочность в сравнительном аспекте. Толщину плёнок определяли при помощи микрометра в различных местах плёнок (n=6). Силу адгезии плёнок и прочность определяли в Ньютонах (Н). Установлено, что «NeuSkin-F» почти в 2 раза толще и прочнее наших плёнок, но в 2 раза уступает нашим РП по силе адгезии. Плёнки на основе коровьего коллагена превосходят по всем изученным параметрам таковые на основе крысиного коллагена. Внесение в коллагеновый гель флавоноидов уменьшает прочность плёнок по сравнению с NeuSkin-F почти в 2,2 раза, по сравнению между двумя видами коллагена почти в 1,5 раз (табл. 3).

Таблица 3.

Физико-химические параметры РП, полученные из расчёта 40 мл гелеобразного коллагена на чашку Петри диаметром 90 мм

РП	Толщина, мкм	Прочность, Н	Сила адгезии
RC	54,3±1,45**	49,7±1,86**	0,88±0,03*
RC-Rc	57,8±1,89**	53,2±1,3**	0,95±0,01*
RC-K-Ru	42,8±1,54**	35,7±2,12**	0,56±0,02
RC-F-K-Ru	55,8±1,6**	41,8±1,58**	0,79±0,02
CC-K-Ru	61,7±2,42**	51,7±1,89**	1,09±0,03*
CC-Rc	61,3±2,51**	50,5±1,61**	1,06±0,02*
CC-F-K-Ru	67,5±2,22**	55,7±1,71**	1,07±0,04*
CC	62,3±1,86**	58,0±2,05**	1,20±0,04*
NeuSkin-F	97,7±0,49	114,2±0,6	0,66±0,01

*Примечание: по сравнению с коммерческим РП “NeuSkin-F” *P≤0,002, **P≤0,001*

Установлены следующие свойства изученных РП, которые можно привести в порядке убывания положительных качеств следующим образом: по силе адгезии - CC→CC-K-Ru→CC-K-Ru-F→CC-Rc →RC-Rc→RC→RC-K-Ru-F→«NeuSkin-F»→RC-K-Ru; по прочности - «NeuSkin-F»→CC→ CC-K-Ru-F→RC-Rc→CC-K-Ru→CC-Rc→RC→RC-K-Ru-F→RC-K-Ru. Тем не менее для дальнейших исследований отобраны все плёнки.

Оценка биосовместимости и регенеративных свойств новых композиций раневых покрытий на экспериментальных моделях ожоговых ран. Оценку биосовместимости новых композиций проводили методом *in vitro*, путём высева культур клеток фибробластов, полученных методом экспланта из дермы кожи крысят. Культуру клеток пассировали до 5 пассажа в полной среде RPMI-1640 с 10% фетальной сыворотки телёнка. Клетки

снимали раствором трипсин/ЭДТА и засеивали из расчёта 20-22 тысячи на 1 см² площади субстрата, где субстратом были раневые покрытия на дне чашек Петри, и культивировали в течение недели, после чего оценивали количество жизнеспособных клеток методом neutral red. Установлено, что ни одно из исследуемых РП, включая и коммерческий образец «NeuSkin-F» не вызывали статистически значимых ингибирующих и пролиферирующих эффектов, клетки удвоились, как и в чашке Петри без РП, и достигли полного монослоя. Оценку специфической активности РП проводили на моделях термических ожогов IIIA степени на крысах. Однотипные по размерам и глубине ожоги наносили медной пластиной размером 1,75x1,75 см, закреплённой на паяльном устройстве. Струпы снимали 40% салициловой кислотой и наносили РП. Установлено, что «NeuSkin-F» обладает очень плохой адгезией и конгруэнтностью с раневой поверхностью, а наши РП сразу адгезировались на поверхности ран. РП под аббревиатурным названием RC-Rc, RC-K-Ru, RC-K-Ru-F, CC-Rc, CC-K-Ru, CC-K-Ru-F приводят к заживлению ран за 17,4 – 21,1 суток, в то время как NeuSkin-F – за 22,1-22,9 суток (см.табл. 4).

Таблица 4

Влияние РП на площадь ран и скорость заживления (M±m, n=10)

Условия опыта	Средняя площадь раны, см ²				Срок регенерации ран, сутки
	3 сутки	9 сутки	15 сутки	18 сутки	
RC-Rc	2,7±0,10	1,9±0,07	1,1±0,03	0,3±0,01	20,9±0,2**
RC-K-Ru	2,6±0,11	1,9±0,02	1,2±0,02	0,3±0,01	20,5±0,2**
RC-K-Ru-F	2,5±0,04	2,0±0,02	1,0±0,02	0,2±0,01	19,6±0,2**
CC-Rc	2,5±0,07	1,8±0,01	0,8±0,01	0,02±0,01	18,9±0,1***
CC-K-Ru	2,4±0,07	1,7±0,03	0,6±0,01	0,01±0,01	18,8±0,2***
CC-K-Ru-F	2,3±0,08	1,5±0,02	0,4±0,01	0	17,5±0,1***
NeuSkin-F	2,9±0,12	2,2±0,03	1,9±0,06	0,9±0,09	22,5±0,4*
Контроль	2,9±0,11	2,3±0,09	1,8±0,07	1,1±0,07	25,8±0,4

Примечание: *P<0,05; ** P<0,02 и **** P<0,001 по сравнению с контролем

Кроме того, все РП на основе коровьего коллагена приводили к формированию правильной архитектоники околорубцовой и рубцовой зон репарации, что подтверждается данными гистоморфологии (рис. 4).

По снимкам гистоморфологии рисунка 4 можно наблюдать, что контрольные (нелеченные) участки кожи представлены замещенным грануляционной тканью покровным эпителием и язвенным дефектом; CC-K-Ru-F - многослойным плоским ороговевающим эпителием и различными сосочковым и сетчатым слоями дермы; CC-K-Ru - многослойным плоским ороговевающим эпителием, а в сетчатом слое дермы видны эластические волокна и волосяные фолликулы; CC-Rc, как и CC-K-Ru-F, но отмечаются признаки компенсации, в виде разрастания коллагеновых волокон; RC-K-Ru-F - эпидермисом с гиперкератозом, отмечается гиперрегенераторная реакция с замещением эрозии; RC-K-Ru - эрозивным очагом с кровоизлиянием под эпидермисом; RC-Rc и «NeuSkin-F»-отслоением дермы и язвенным дефектом покровного слоя. Таким образом, наилучший эффект показали плёнки CC-K-

Ru-F и СС-К-Ru, эпителизация к моменту изъятия образцов ткани полностью завершена, в то время как в остальных группах регенеративный процесс продолжался.

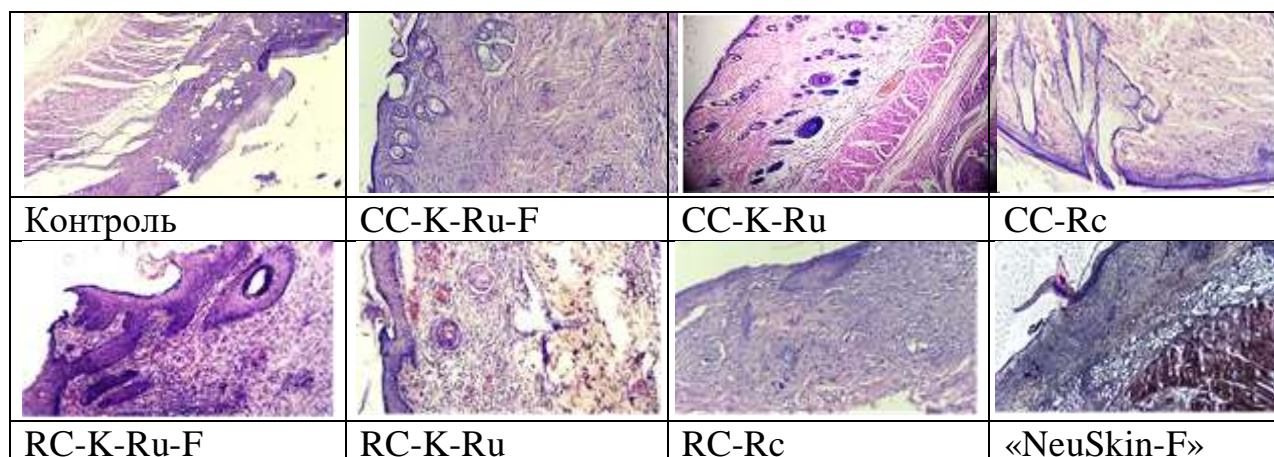


Рис. 4. Гистоморфология рубцовой части кожи экспериментальных животных. Окраска ГЭ. Ув. 10x10.

Тем не менее участки кожи, после ожога обработанные RC-K-Ru-F и СС-Rc визуально эпителизированы на 20 сутки изъятия образцов кожи, но регенеративные процессы в дерме продолжаются, что и отображается на гистологических снимках.

ВЫВОДЫ

1. Получены новые композиции раневых покрытий на основе коллагена с включенными *ex situ* антимикробными, антиоксидантными и пролиферативными компонентами растительного происхождения, в частности алкалоида, флавоноидов и экстракта полифенольных соединений, что придало коллагеновой основе полифункциональность, ускорило регенерацию экспериментальных гнойных и ожоговых ран в 1,73 и 1,49 раз.

2. Раневые покрытия на основе крысиного коллагена с добавлением филлальбина (RC-F) и с кверцетином (RC-K) эффективны при терапии гнойных ран кожных покровов, по сравнению с контрольными нелечеными ранами и ускорили регенерацию гнойных ран в 1,73 раз, что обусловлено антимикробными, пролиферативными свойствами филлальбина, антиоксидантными свойствами кверцетина, и заместительным эффектом экзогенного коллагена.

3. СС-К-Ru-F – плёнки на основе коровьего коллаген с флавоноидами из *Sophora japonica* и алкалоидом филлальбином являются наиболее эффективными для терапии ожоговых ран; обладают высокой конгруэнтностью и адгезией к поверхности раневого ложе и ускоряют заживление ран в 1,49 раз, по сравнению с нелечеными ожоговыми ранами.

4. СС-Rc–плёнки на основе коровьего коллагена с экстрактом полифенольных соединений из *Rumex confertus* также обладают высокой конгруэнтностью и адгезией к поверхности раневого ложе и ускоряют

заживление ран в 1,34 раз, по сравнению с нелечеными ожоговыми ранами, что обусловлено антимикробными, противовоспалительными и регенеративными свойствами экстракта и экзогенного коллагена.

5. Установлено, что коммерческое раневое покрытие «NeuSkin-F» (Eucare Pharmaceuticals (P) Limited, India) обладает относительно плохой адгезией и конгруэнтностью к раневому ложу и как следствие низкой специфической активностью по сравнению с полученными композициями раневых покрытий.

6. Разработанные композиции раневых покрытий полифункциональны, не токсичны, не оказывают местно-раздражающего действия, гистосовместимы, гипоаллергенны. Безопасность для клинического применения подтверждена нашими морфологическими исследованиями с длительным пероральным применением высоких доз (5000 мг/кг) гелеобразных форм композиций.

**ONCE-ONLY SCIENTIFIC COUNCIL AWARDING SCIENTIFIC
DEGREES DSc.03/30.12.2019.B.01.13 AT THE INSTITUTE OF
BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY, NATIONAL UNIVERSITY OF
UZBEKISTAN**

TASHKENT MEDICAL ACADEMY

ABIDOVA AZIZA DJALILOVNA

**CREATION OF COMPOSITIONS OF WOUND COATINGS WITH
REGENERATIVE ACTIVITY**

03.00.11 – Histology, cytology and cell biology

**DISSERTATION ABSTRACT
OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD) OF BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2021

The title the dissertation of PhD Has been registered with number B2020.2.PhD/B458 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Tashkent medical academy.
The abstract of the dissertation in three (Uzbek, Russian and English (Resume) languages on the website of the Scientific Council (www.ibb-nuu.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor:	Tseomashko Natalya Evgenevna doctor of sciences in biology
Official opponents:	Shakhmurova Gulnara Abdullaevna doctor of biology sciences, professor Khashimova Zaynat Sattarovna doctor of biology sciences
Leading organization:	Tashkent Pharmaceutical Institute

The dissertation will be defended on 21 april 2021 year 14:00 at the meeting of the Scientific Council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 at the Institute of biophysics and biochemistry, at the National University of Uzbekistan at the following Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student`s town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Institute of biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan (registration number № ____). Address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student`s town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

The abstract of the dissertation has been distributed on «____» _____2021
(Protocol at the register №____ dated «____» _____2021)

Sabirov Ravshan Zairovich
Chairman of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc., academician

Pozilov Mamurjon Komiljonovich
Scientific secretary of scientific council on award of
scientific degrees, D.B.Sc.

Axmedjanov Iskandar Gulyamovich
Chairman of the seminar of scientific degrees awarding of the
scientific councils, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the study is the development and creation of new compositions of biodegradable, biocompatible, multifunctional wound dressings based on collagen with biologically active components of natural origin with antimicrobial, antioxidant and regenerative activity.

The objects of research collagen isolated by protein chemistry methods, alkaloids, flavonoids, plant extract, primary cultures of fibroblasts, strains of gram-positive (*Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*) and gram-negative (*Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*) bacteria and fungus *Candida albicans*, rabbits, rats, their organs and biological fluids

The scientific novelty of the research work is as follows:

for the first time, new compositions of polyfunctional, biocompatible, biodegradable, non-toxic wound dressings based on collagen were obtained in combination with biologically active components of plant origin, such as phillalbin alkaloid, quercetin flavonoid, quercetin glycoside rutin and extract from *Rumex confertus*;

the most effective concentrations of biologically active components for wound dressings have been determined: 12.5-25 µg/ml phillalbin cause fibroblast proliferation, 150 µg/ml quercetin and rutin, cause antioxidant and antiulcer effect, 50 µg/ml *Rumex confertus* extract, stimulate fibroblast proliferation and inhibit the growth of pathogenic microorganisms;

the most active compositions with antimicrobial, antioxidant and regenerative activity have been established, allowing 1.49-1.73 times to accelerate the regeneration of purulent and burn wounds;

a comparative characteristic of the compositions of wound dressings, both based on rat collagen and bovine collagen from the point of view of physicochemical, pharmaco-toxicological and medico-biological indicators, is given.

Implementation of research results. Based on the results obtained when creating compositions of polyfunctional wound dressings based on collagen with biologically active components with regenerative activity:

the gastroprotective effect of biologically active components has been proven on models of stomach ulcers of experimental animals and used in the innovative project № I-6-FA-TO31 "Organization of serial production of the biologically active additive" Ravonol "with relaxing properties" (Reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan № 4/1255-2195 dated October 14, 2020), as a result, it has been shown that this drug can be useful for medicine, as a means with an antiulcer effect;

the therapeutic effect of biologically active components on wounds of various origins (purulent wounds, burns) were introduced into the innovative project I-6-FA-TO31 "Organization of serial production of the biologically active additive" Ravonol "with relaxing properties" (Reference of the Academy of Sciences of the

Republic of Uzbekistan №4/1255-2195 dated October 14, 2020). As a result, it was possible to use this drug in medicine as a means of regenerating action.

The structure and volume of the thesis. The dissertation consists of an introduction, four chapters, a conclusion, and a list of used literature. The volume of the thesis is 120 pages.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

Эълон қилинган ишлар рўйхати

List of published works

I часть (I бўлим, I part)

1. Цеомашко Н.Е., Садыков Р.А., Абидова А.Д., Хегай Л.Н. Современные раневые покрытия в комбустиологии и хирургии.// Медицинский журнал Узбекистана.– 2018. –№4. –С.55-58. (14.00.00; №8)

2. Абидова А.Д., Цеомашко Н. Е., Арипова С.Ф. Получение компонентов для раневых покрытий и оценка их биологической активности.//Universum: химия и биология. №11 (65) ноябрь.–2019. Часть 2, Москва –С. 5-14 (02.00.00; №2)

3. Абидова А.Д., Рахимов А.Т., Цеомашко Н.Е., Оккиев С.С., Мухамедов Б.З., Акмальджанова Д.Р Иммуномодулирующий эффект тканевых препаратов из селезенки и тимуса при аэрозольном применении.// Инфекция, иммунитет и фармакология.–2019.–№1.–С.4-10. (03.00.00; №7)

4. Абидова А. Д., Цеомашко Н. Е., Абдухаликова Н. Ф., Ирискулов Б. У. Применение коллагеновых плёнок с включенным ex situ псораленом для фотодинамической терапии гнойных ран// Universum: химия и биология. 11(77), 05 ноября 2020. –С.6-12. (02.00.00; №2)

5. Абидова А.Д., Цеомашко Н.Е. Раневые покрытия с регенеративными атимикробными и антиоксидантными свойствами //Инфекция, иммунитет и фармакология.–2020.–№6.–С.12-18. (03.00.00;№7)

6. Abidova A.D., Tseomashko N.Y., Makhmudov S.D., Sagdullaev B.T., Abdullaev V.Sh. Extract Of Tannins Of The Plant Rumex Confertus, As An Active Component Of Wound Dressing.// European Journal of Molecular & Clinical Medicine. – 2020. – V.7(8).–p.4086-4098. (Scopus).

II часть (II бўлим, II part)

7. Цеомашко Н. Е., Абидова А.Д. Разработка новых биodeградируемых композиций раневых покрытий и изучение их регенеративных свойств.// Илм-фан ва инновацион ривожланиш. –2019. –№2. Тошкент, –С.63-73.

8. Цеомашко Н.Е., Абидова А.Д., Кадырова Д.А., Махмудов С.Д., Арипова С.Ф., Заирова Х.Т., Камилов Х.М. Средство обладающее регенерирующими и антимикробными свойствами для покрытия ран различного генеза// Заявка на патент №IAP20180645

9. Махмудов С.Д., Абрекова А.А., Бекназарова Н.С., Турабоев Ш.М., Абидова А.Д., Цеомашко Н.Е., Ахмедов О.Р., Мамадрахимов А.А., Тураев А.С., Сагдуллаев Б.Т. Ранозаживляющее покрытие // Заявка на патент № IAP 20200447, 21.10.2020

10. Абидова А.Д., Цеомашко Н.Е., Ирискулов Б.У. Изучение действия на кожу ран фотосенсибилизаторов с раневыми покрытиями// Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії I призна-Л 56 чення лікарських

засобів»: матеріали III Міжнар.наук.-практ.конф. (14-15 березня 2019 року)/у 2-х т.-Х.: НФаУ. – 2019. Харків –С. 25

11. Абидова А.Д., Цеомашко Н. Е. Разработка раневых покрытий с добавками суммы алколоидов из растений.// Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії I призна-Л 56 чення лікарських засобів»: матеріали III Міжнар.наук.-практ.конф. (14-15 березня 2019 року)/у 2-х т.-Х.: НФаУ. – 2019 Харків –С. 22

12. Abidova A.D., Makhmudov S.D., Tseomashko N.E. Assessment of antimicrobial activity of extracts isolated from plants of the genus *Rumex* and *Prunus L.*// Международная конференция молодых ученых «Наука и инновации» 1.10.2019, Ташкент, –С.18

13. Абидова А.Д., Цеомашко Н.Е. Создание биосовместимого раневого покрытия с регенеративными, антимикробными и антиоксидантными свойствами// International Trends in Science and Technology Vol.1, March 31, 2019 Warsaw, Poland.–С.27-31.

14. Цеомашко Н.Е., Абидова А.Д., Цай Е.А., Арипова С.Ф. Разработка раневых покрытий для лечения поврежденных кожных покровов и мягких тканей различного генеза.// Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії I призна-Л 56 чення лікарських засобів»: матеріали III Міжнар.наук.-практ.конф. (14-15 березня 2019 року)/у 2-х т.-Х.: НФаУ. – 2019 Харків –С. 235-242

Автореферат «Ўзбекистон Биология журнали» таҳририятида
таҳрирдан ўтказилди.

Босишга рухсат этилди: 08.04.2021

Бичими: 60x84 1/8 «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулда босилди.

Шартли босма табағи 2,8. Адади: 100. Буюртма: № 22

Тел: (99) 832 99 79; (97) 815 44 54

“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмахонасида чоп этилди.

Манзил: Тошкент ш., Яккасарой тумани, Қушбеги кўчаси, 6 уй