

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.V.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ

БАРАТОВ ҚЎЗИЖОН РАББИМ ЎҒЛИ

**РУТИННИНГ ЭРУВЧАН ШАКЛИНИНГ БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ ВА
ФАРМАКОЛОГИК ХУСУСИЯТЛАРИНИ ЎРГАНИШ**

03.00.01 – Биокимё

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

Тошкент – 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата доктора философии (PhD)
Contents of Dissertation Abstract of the doctor of Philosophy (PhD)

Баратов Қўзижон Раббим ўғли

Рутиннинг эрувчан шаклининг биологик фаоллиги ва фармакологик хусусиятларини ўрганиш.....3

Баратов Кузижон Раббим угли

Изучение биологической активности и фармакологических свойств растворимой формы рутина.....21

Baratov Kuzijon Rabbim ugli

The study of the biological activity and pharmacological properties of rutin soluble form.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.43

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

БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ

БАРАТОВ ҚЎЗИЖОН РАББИМ ЎҒЛИ

**РУТИННИНГ ЭРУВЧАН ШАКЛИНИНГ БИОЛОГИК ФАОЛЛИГИ ВА
ФАРМАКОЛОГИК ХУСУСИЯТЛАРИНИ ЎРГАНИШ**

03.00.01 – Биокимё

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

Тошкент – 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2019.2.PhD/B290 рақами билан рўйхатга олинган.

Диссертация иши Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институтида бажарилган.

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

Илмий раҳбар:

Тагайалиева Нигора Абдунабиевна
биология фанлари номзоди, катта илмий ходим

Расмий оппонентлар:

Юлдашев Насирджан Мухамеджанович
биология фанлари доктори, профессор

Абдуллаева Муборак Махмусовна
биология фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот:

Андижон давлат университети

Диссертация ҳимояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.B.01.13 рақамли Илмий кенгашнинг 2022 йил «12» январь соат 14⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96.

Диссертация билан Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№31 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 «29» сентябрь кuni тарқатилди (2021 йил «29» сентябрь даги 1 рақамли реестр баённомаси).



[Handwritten signature]

Сабилов Равшан Заирович
Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

Позилев Маъмуржон Комилжонович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.д.

[Handwritten signature]
Кадирова Дилбар Абдуллаевна
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги
илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор.

КИРИШ (Фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Бутун дунё соғлиқни сақлаш тизимида доривор ўсимликлар ўзининг биологик фаол компонентларининг самарали терапевтик хоссалари туфайли муҳим аҳамиятга эга бўлди. Улар орасида энг кўп ўрганилгани фенол бирикмалар, шу жумладан рутин ва кверцетин флавоноидларидир. Бу флавоноидлар антиоксидант, цитопротектор, вазопротектор, нейро- ва кардиопротектор, яллиғланиш, микроблар, вируслар, ўсмаларга қарши ва бошқа таъсирларга эга.

Флавоноидларнинг хужайрага асосий таъсир механизми юқори антиоксидант хоссага эга эканлиги бўлиб, улар ушбу хусусияти туфайли кенг миқёсдаги таъсирга эга. Флавоноидларнинг ҳар хил *in vitro* тизимларида яққол намоён бўлган биологик фаоллигига қарамай, *in vivo* тизимларидаги биологик таъсири уларнинг биологик ўзлаштирилишининг пастлиги туфайли чеклангандир. Рутин учун ташувчи тизимлардан фойдаланилиши ёки унинг юқори эрувчан ҳосилаларининг олиниши препаратнинг биологик ўзлаштирилиш хусусиятини яхшилаши мумкин, бу эса одамдаги ҳар хил сурункали касалликларнинг олдини олишда, даволашда рутиннинг аҳамияти ва истиқболининг янада ортишига сабаб бўлади. Шу муносабат билан, рутиннинг сувда ва липид фракциясида эрувчанлигини ошириш турли патологияларда қўлланиладиган дори воситаларини янги турларини яратишга асос бўлади.

Ҳозирги кунда мамлакатимизда ўсимлик моддалари асосида истиқболли дори воситалари ишлаб чиқишга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегиясининг 4-йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори-дармон билан таъминлашни такомиллаштириш» вазифалари белгиланган¹. Мазкур вазифаларни амалга оширишда ўсимлик компонентлари асосида олинган препаратлардан, айнан глицирризин кислотаси ва унинг ҳосилаларидан фойдаланиш долзарб аҳамият касб этади.

Ушбу диссертация тадқиқоти Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги фармони, 2018 йил 23 январдаги ПҚ-3489-сон «Дори воситалари ва тиббий буюмларни ишлаб чиқариш ва импортини тартибга солиш чора тадбирлари тўғрисида» ги, 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлари тўғрисида»ги Қарорларида ва 2019 йил 10 апрелдаги ПФ-5707-сон «2019-2021 йилларда республика фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш чора-тадбирларини янада кучайтириш тўғрисида» фармони

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантиришнинг бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисидаги» фармони

ва бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни ҳал қилишга ва амалга оширишда муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқотлар республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Жаҳоннинг кўплаб илмий марказларида дори препаратларининг эрувчанлигини ошириш усулларини излаб топиш бўйича тадқиқотлар ўтказилмоқда, ушбу йўналиш замонавий фанда нанофармакология деб аталади. Рутиннинг эрувчанлигини ошириш учун нанозаррачалар, нанокапсула, наноэмульсия ва желатинланган кўринишида, циклодекстрин, фосфолипид билан комплекслар яратиш; гидроксипропилланган (Венорутон ва бошқалар), карбоксил ва сульфонат ҳосилалар олиш (эрувчанлик 100 марта ортади), олигомерлар синтези (4200 марта) ва бошқалар таклиф этилган. Хусусан, Cosco бошчилигидаги бир гуруҳ Италиялик олимлар томонидан рутин хитозан матрицасидан эркин ажралиб чиқиши назоратга олинган ҳолда микрокапсулаланди. Рутин юкланган микросфераларнинг яллиғланишга қарши фаоллигини яхшилашнинг *in vivo* ва *in vitro* тадқиқотларида тасдиқланди. Babazadeh ва бошқа муаллифлар томонидан рутиннинг фосфатидилхолин (ФХ) билан ФХ-рутин ҳосил қилган комплексининг капсулаланган формаси яратилди, бу капсула нанофитосома сифатида маълум бўлиб, рутинни сувда эрувчанлиги ва биологик ўзлаштирилишини ошириш имконини берди. D.Caparica ва бошқа тадқиқотчилар рутиннинг ташувчиси сифатида ион суюқлигидан фойдаланишни таклиф этдилар.

МДХ давлатларида О.Ю. Селютина ва Н.Э. Поляков каби тадқиқотчилар ГК билан гидрофоб доривор бирикмаларни комплекслаш устида тадқиқотлар олиб бормоқдалар, бундай комплексларнинг биологик ўзлаштирилиш даражасини орттириш механизми ГКнинг мембранани модификациялаш фаоллиги ҳисобигадир. Л.А. Яковичин ва унинг гуруҳи тадқиқотчилари турли биологик фаол моддалар, шу жумладан кенг қўлланиладиган фармакопея препаратлари билан бир қаторда тритерпен гликозидлари бўлган молекуляр комплексларни ўргандилар. Қозоғистонда Т.М. Сейлханов раҳбарлигида бир гуруҳ олимлар томонидан биологик фаол бирикмалар, фармакологик препаратлар ва дори воситалари билан олинган циклодекстрин комплекслари ўрганилмоқда.

Республикада ГК ёрдамида дори препаратларининг ўзлаштирилишини яхшилаш бўйича тадқиқотлар бир нечта илмий лабораторияларда олиб борилмоқда. Шу жумладан, Биоорганик кимё институтида ушбу йўналишдаги тадқиқотлар к.ф.д. проф. Д.Н. Долимов томонидан бошланган бўлиб, ҳозирги кунда унинг шогирдлари М.Б. Ғафуров ва А.Д. Матчанов бу борадаги тадқиқотларни давом эттирмоқдалар. Шу кунгача ГК ва унинг ацетилсалицил кислотаси билан ҳосилалари асосида аспирин (Глас), преднизалон (Глипред), лагохилин (Глилагин), изониазидлар

билан (Туглизид) супрамолекуляр комплекслар ва бошқа препаратлар олинган.

Диссертация тадқиқотининг диссертация иши бажарилган илмий-тадқиқот институтининг иш режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институтининг илмий тадқиқот ишлари режасига мувофиқ ФА-А11-Т070 «Маҳаллий ўсимлик хом ашёси асосида самарали иммуномодулятор яратиш ва ишлаб чиқиш» (2015-2017) мавзусидаги илмий лойиҳа доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади рутиннинг тритерпен гликозидлари билан супрамолекуляр комплеклари орасидан ҳар хил *in vivo* ва *in vitro* моделларида аниқланган биологик фаоллиги бўйича энг самарали комплексни танлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

рутиннинг глицирризин кислотаси (ГК/Р) ва унинг моноаммонийли тузи (ГКМ/Р) билан супрамолекуляр комплекслари компонентлари орасидан оптимал моляр нисбатдаги комплексни капилляр-протектор хоссалари бўйича *in vivo* аниқлаш;

рутин учун супрамолекуляр комплекслар таркибида ҳар хил *in vivo* экспериментал (яллиғланиш, атеросклероз) моделларида биокимёвий параметрлар бўйича ташувчи танлаш;

танлаб олинган комплекс (рутиннинг янги эрувчан шакли – Глирутин)нинг яллиғланишга қарши фаоллигини биокимёвий ва фармакологик кўрсаткичлари бўйича тадқиқ қилиш ва терапевтик дозани *in vivo* аниқлаш;

рутиннинг ГК билан супрамолекуляр комплекси ҳосил бўлиш жараёнининг унинг антиоксидантлик (антирадикаллик) хусусиятига таъсирини *in vitro* аниқлаш;

ЎзР ССВ Фармакологик Қўмитасининг талабларига мувофиқ Глирутиннинг потенциал дори препарати сифатида умумий ва токсикологик синовларини ўтказиш.

Тадқиқотнинг объекти рутин, ГК, ГКнинг моноаммонийли тузи, рутиннинг ГК ва унинг моноаммонийли тузи билан ҳар хил нисбатдаги комплекслари, Глирутин препарати, лаборатория ҳайвонларидан иборат.

Тадқиқотнинг предмети олинган супрамолекуляр комплексларининг соғлом ва турли патологик ҳолатларда бўлган ҳайвонларда антиоксидантлик, яллиғланишга қарши, гиполипидемик таъсирини аниқлаш, шунингдек клиникаолди синовларида Глирутин препаратининг токсикологик таъсирларини баҳолашдан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Диссертация ишида ГК ва унинг ҳосилалари билан рутиннинг ҳар хил комплексларининг антиоксидант, яллиғланишга қарши, гиполипидемик ва антирадикал фаоллигини аниқлашда биокимёвий, физика-кимёвий усуллардан, шунингдек, капилляр ўтказувчанлик («кўк трипан»), яллиғланиш («каррагенинли шиш» ва «пахта гранулёма») ва атеросклероз («твин модели») фармакологик тажриба моделларидан

фойдаланилган. Глирутиннинг умумий ва специфик токсикологияси тадқиқотларини бажаришда цитологик, биокимёвий ва умумий қабул қилинган фармако-токсикологик усулларида ўтказилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

тритерпен гликозидлар ва рутиннинг супрамолекуляр комплекс таркибидаги оптимал моляр нисбати 4:1 ва оптимал ташувчи ГК эканлиги аниқланган ва ГК/Р 4:1 моляр нисбатдаги комплекс Глирутин деб номланган;

Глирутин таркибида рутиннинг антиэкссудатив, капилляр-протектор, антиоксидант ва гипополидемик хусусиятларини *in vivo* ва антирадикал фаоллиги *in vitro* сезиларли даражада ортганлиги исботланган;

каламушларда Глирутин препаратнинг (ГК/Р 4:1 моляр нисбатда) терапевтик дозаси (5 мг/кг) рутиннинг терапевтик дозасига нисбатан (100 мг/кг) 20 марта паст эканлиги аниқланган;

клиникаолди тадқиқотларида Глирутиннинг ўткир заҳарлаш, кумулятивлик ва сурункали заҳарлаш хусусиятлари; маҳаллий ачиштирувчи, мутаген, эмбриотоксик, тератоген таъсирлари ва репродуктив жихатдан хавфсизлиги ҳайвонлар организмида аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат: рутиннинг ГК билан комплекс ҳолида қўллаш истиқболлари ҳамда паст дозали препарат яратиш имкони мавжудлигини кўрсатган. Клиникаолди тадқиқотларида олинган натижалар орқали ушбу комплекс хавфсиз восита сифатида тўла тавсифлаб берилган. Рутиннинг ГК билан комплекси ўткир заҳарлилиги бўйича кимёвий моддаларнинг VI - нисбатан зарарсиз моддалар синфига оидлиги аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги тажриба натижаларининг етарли сондаги лаборатория ҳайвонларида биокимёвий, фармакологик, физиологик, гематологик ва токсикологик сезгир усуллардан фойдаланган ҳолда олинганлиги, натижаларга компютерда дастурланган аниқ статистик усулларда ишлов берилганлиги, шу билан биргаликда олинган натижалар республика ва халқаро илмий анжуманларда муҳокама қилиниб, уларни илмий жихатдан таҳлил қилувчи нашрларда чоп этиш билан амалда кўрсатилиб тасдиқланди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти рутин билан ГК ҳамда унинг моноаммонийли тузи билан ҳар хил нисбатларда олинган комплексларининг физиологик меъёрларда ва патологик ҳолатлардаги (пролифератив ва экссудатив яллиғланишлар, гиперлипидемия) биологик фаоллиги тўғрисидаги маълумотларни илк бор тақдим қилиш билан изоҳланади.

Тадқиқотнинг амалий аҳамияти ўтказилган тажрибалар натижасида хавфсиз, паст дозали, яллиғланишга қарши, юқори антиоксидантлик ва гипополидемик сифатларга эга бўлган рутиннинг ГК билан 1:4 нисбатдаги супрамолекуляр комплексидан ташкил топган Глирутин препарати олинди ва ушбу фармакологик препаратнинг тўлиқ клиникаолди тадқиқотлари ўтказиш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Рутин, ГК, унинг моноаммонийли тузи ҳамда улар супрамолекуляр комплексларининг биологик фаоллиги бўйича олинган натижалар асосида:

рутиннинг ГК ва унинг моноаммонийли тузи билан ҳар хил моляр нисбатлардаги супрамолекуляр комплексларининг антиоксидант фаоллиги бўйича олинган илмий натижалардан ФА-А10-Т053 рақамли «Қандли диабетда оксидатив стресс ҳолатини маҳаллий хомашёдан олинган табиий бирикмалар билан коррекциялаш услубини ишлаб чиқиш» амалий лойиҳасида полифеноллар, таннинлар, флавоноидлар ва улар ҳосилаларининг антиоксидантлик, гипогликемик, антирадикаллик хоссаларини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2021 йил 2 июндаги 4/1255-1615-сон маълумотномаси). Натижада, препаратлар орасидан юқори антиоксидантлик хусусиятларга эга бўлган бирикмаларни танлаб олиш имконини берган;

ГК ва унинг моноаммонийли тузи биологик фаоллигини *in vivo* ўрганиш бўйича олинган натижаларга асосланиб, ГК ва унинг моноаммонийли тузида капилляр-протектор ва антиоксидант хусусиятларнинг мавжудлиги ГКнинг янги ҳосилаларини олиш заруриятини кўрсатган ва шунга таяниб ФПФИ Т. 2-18 рақамли «2-алкил (арил)-5-амино 1,3,4-тиадиазол қолдиғини тутган айрим табиий тритерпен кислоталари ҳосилаларининг биологик фаоллиги» амалий лойиҳасини бажариш давомида ГКнинг 14 та янги ҳосиласи синтезланган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2021 йил 2 июндаги 4/1255-1614 сон маълумотномаси). Натижада, яллиғланиш ва гипоксияга қарши, иммунотроп хоссаларига асосланиб танланган ҳосилалар янги истиқболли препаратлар олиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Тадқиқот натижалари 3 та халқаро ва 6 та республика илмий амалий анжуманларида муҳокамадан ўтган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича ҳаммаси бўлиб 18 та иш чоп этилган, улардан 6 та илмий мақола бўлиб, улар Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссияси томонидан тавсия этилган 2 та республика ва 4 та хорижий журналларда, улардан 1 таси Scopus ва 1 таси Web of Science базаларида чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертациянинг тузилиши кириш, тўртта боб, яқун, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар қисмларидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 115 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва заруриятига асосланиб, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари келтирилган. Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган. Тадқиқотларнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, нашр

этилган ишлар ва диссертациянинг тузилиши бўйича маълумотлар келтирилди.

Диссертациянинг «**Глицирризин кислотаси ва унинг ҳосилаларини рутин флавоноиди учун ташувчи сифатида қўллаш истиқболлари**» деб номланган биринчи бобида Глицирризин кислотаси ва унинг ҳосилаларининг биологик фаоллиги, уларнинг вирусли гепатитлар ва бошқа паталогик ҳолатларда кенг қўлланилиши бўйича илмий адабиётлар таҳлил қилинган. Айтилган вақтда, ушбу биологик фаол моддаларнинг бошқа бир ноёб хусусияти, айнан супромолекуляр комплекс кўринишида эрувчанлиги паст бўлган моддалар учун ташувчи сифатида иштирок этишидир. Мазкур ишда ташувчи учун агент сифатида энг кўп тарқалган флавоноидлардан бири бўлган, ўзининг юқори антиоксидант потенциали туфайли кенг таъсирга эга бўлган рутинни қўллаш имконияти кўриб чиқилган ва таклиф этилган. Шу билан бирга адабиёт таҳлилида турли табиатли ташувчи қўллаш йўли билан рутиннинг эрувчанлиги, биологик ўзлаштирилиши бўйича дунёда ўтказилаётган тадқиқотларга шарҳлар берилган.

Диссертациянинг «**Рутин билан глицирризин кислотаси ва унинг моноаммонийли тузи асосидаги супромолекуляр комплексларнинг биологик фаоллигини тадқиқ қилиш усуллари**» деб номланган иккинчи бобида қўйилган вазифаларни бажариш учун фойдаланилган материал ва усуллар келтирилган. Хусусан, қонда липид спектри даражаси, антиоксидант тизими (физиологик меъерий шароитларда жигар митохондриясида, қонда паталогик модел ҳолатларида) биокимёвий таҳлил усуллари, шунингдек яллиғланиш маркерлари қўлланилди. Фойдаланилган моделлар: чақирилган гиперлипидемия, каррагенинли шиш асептик яллиғланиши, «пахта гранулема»си, капилляр-протектор хоссалари баҳоланиши баён қилинди. Энг фаол комплекснинг хавфсизлигини аниқлаш учун клиникаолди фармакотоксикологик тадқиқотлар тестлари, олинган натижаларнинг статистик ишлови усуллари келтирилган.

Диссертациянинг «**Рутиннинг янги эрувчан шакли (Глирутин)нинг специфик фаоллиги**» номи остидаги учинчи боби рутин ва глицирризин кислотаси (ГК) ҳамда унинг моноаммонийли тузи (ГКМ) асосида олинган супромолекуляр комплекслар орасидан босқичма-босқич энг фаол комплексни танлаб олишга бағишланган.

Рутиннинг ГК (ГК/Р) ҳамда ГКМ (ГКМ/Р) билан супромолекуляр комплексларининг оптимал нисбатни танлаш комплексларнинг капилляр-протектор фаолликларини рутиннинг ўзи билан қиёслаб сичқонларда кўк трипанли тажриба моделида ушбу бўёқнинг яллиғланиш ўчоғига кўрииб чиқиш вақти билан баҳоланди. Комплекслар 3 та моляр нисбат: 2:1, 4:1 и 9:1 бўйича қиёсланди (1-жадвал). Ҳар иккала ГК ва ГКМ комплекслар гуруҳларида 4:1 моляр нисбат юқори фаоллик намоён қилди, бунда 4:1 нисбатдаги ГК/Р, 4:1 нисбатдаги ГКМ/Рга нисбатан юқори фаоллик кўрсатди ($p < 0,0001$).

Рутин ва унинг ҳар хил моляр нисбатлардаги комплексларининг кўк трипаннинг кўриниб чиқиш вақтига кўра капилляр-протектор фаоллиги бўйича баҳолаш, $M \pm m$, $n=6$

Назорат	Рутин	ГК/Р			ГКМ/Р		
		2:1	4:1	9:1	2:1	4:1	9:1
5,8±0,5	8,8±0,9 $p_1 < 0,05$	11,8±0,3 $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$	15,8±0,3 $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,001$	11,0±0,9 $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,01$	9,8±0,3 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,0001$	11,5±0,3 $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$	10,3±0,5 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,0001$

Изоҳ: аҳамиятли фарқлар: p_1 – назоратга нисбатан, p_2 – рутинга нисбатан, p_3 – Г/Р (4:1) комплексга нисбатан

Супрамолекуляр комплексларга оптимал ташувчи танлаш учун юқоридаги тажрибани рутин, ГК ва ГКМга қиёслаб ўтказдик. Капилляр-протектор таъсири куйидаги тартибда ортиб борди: $ГК < Рутин < ГКМ < ГКМ/Р < ГК/Р$, бунда ГК/Р комплекси капилляр-протектор таъсири бўйича МК/Р комплексига нисбатан 1,4 марта ($p < 0,01$), рутиннинг ўзига нисбатан 1,6 марта ($p < 0,005$) самарали эканлиги аниқланди (2-жадвал).

Тадқиқ қилинган препаратларнинг капилляр-протектор таъсирини сичқонларда кўк трипан бўёғининг яллиғланиш ўчоғига чиқиш вақти бўйича баҳолаш, $M \pm m$, $n=3$

Препаратлар, 5 мг/кг	Назорат	Рутин	ГК	ГК/Р	ГКМ	ГКМ/Р
Бўёқ чиқиш вақтининг бошланиши, дақ.	5,58±0,59	9,57±0,50 $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,005$	7,93±0,35 $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,005$	15,67±0,5 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,005$	9,93±0,19 $p_1 < 0,005$	11,33±0,3 $p_1 < 0,005$ $p_3 < 0,01$

Изоҳ: p_1 – назоратга нисбатан фарқлар даражаси, p_2 – рутинга нисбатан, p_3 – ГК/Р кўрсаткичларига нисбатан олинган

Антиоксидантлик хусусияти тадқиқ қилинганда препаратларнинг 20 мг/кг дозасида физиологик меъёрий шароитларда каламуш жигари митохондрияларида пероксидланиш кўрсаткичи куйидаги қаторда камайди: $ГКМ < ГКМ/Р < ГК < Рутин < ГК/Р$ (3-жадвал).

ГК/Р ва ГКМ/Р комплексларнинг гиполлипидемик ва антиоксидант хоссаларини қиёсий тавсифлаш бўйича тадқиқотлар каламушларда *in vivo* тизимида чақирилган гиперлипидемия шароитида фақат рутин билан ўтказилди (4-жадвал). Олинган маълумотлар назорат ҳайвонларида гиперлипидемия ривожланганлигини кўрсатди, УХ миқдорлари 1,39±0,05 дан 2,03±0,05 ммол/л қийматгача ($p < 0,00001$), ТД 0,91±0,01 дан 1,44±0,07

ммол/л қийматгача ($p < 0,000001$), ПЗЛП $0,88 \pm 0,03$ дан $1,52 \pm 0,21$ ммол/л қийматгача ($p < 0,01$) статистик жиҳатдан сезиларли даражада ортди. ЮЗЛП $0,35 \pm 0,05$ дан $0,22 \pm 0,0038$ ммол/л-гача пасайиши кузатилди, лекин статистик жиҳатдан ишонарли даражага эришилмади.

3-жадвал

Рутин препарати ва Глирутиннинг физиологик меъерий шароитда антиоксидант хусусиятини каламушларда *in vivo* баҳолаш,
 $M \pm m, n=9$

Препаратлар, 20 мг/кг	Назорат	Рутин	ГК	ГК/Р	ГКМ	ГКМ/Р
МДА, нмол/мг	$3,433 \pm 0,085$	$2,614 \pm 0,184$ $p_1 < 0,001$	$3,052 \pm 0,099$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$	$2,185 \pm 0,164$ $p_1 < 0,000001$	$3,242 \pm 0,119$ $p_2 < 0,01$	$3,113 \pm 0,129$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$

Изоҳ: p_1 – назоратга нисбатан фарқлар даражаси, p_2 – рутинга нисбатан, p_3 - ГК/Р кўрсаткичларига нисбатан олинган

4-жадвал

Рутин ва унинг комплексларининг каламушларда чақирилган гиперлипидемия холатидаги *in vivo* фаоллиги, $M \pm m, n=10$

	Физиологик меъёр	Назорат	Рутин, 40 мг/кг	ГК/Р, 40 мг/кг	ГКМ/Р, 40 мг/кг
УХ ммол/л	$1,39 \pm 0,05$	$2,03 \pm 0,05$ $p_1 < 0,00001$	$1,70 \pm 0,04$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$	$1,58 \pm 0,04$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,0001$	$1,73 \pm 0,01$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,005$
ТГ ммол/л	$0,91 \pm 0,01$	$1,44 \pm 0,07$ $p_1 < 0,000001$	$1,22 \pm 0,16$	$1,07 \pm 0,02$ $p_1 < 0,000001$ $p_2 < 0,0001$	$1,14 \pm 0,03$ $p_1 < 0,000001$ $p_2 < 0,001$
ЮЗЛП ммол/л	$0,35 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,038$	$0,36 \pm 0,09$	$0,38 \pm 0,03$ $p_2 < 0,01$	$0,34 \pm 0,02$ $p_2 < 0,05$
ПЗЛП ммол/л	$0,88 \pm 0,03$	$1,52 \pm 0,21$ $p_1 < 0,01$	$1,11 \pm 0,04$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,01$	$0,98 \pm 0,02$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$1,15 \pm 0,04$ $p_1 < 0,0001$ $p_3 < 0,01$
АК	2,97	8,23	3,72	3,16	4,09
МДА мкмоль/л	$2,15 \pm 0,04$	$3,3 \pm 0,06$ $p_1 < 0,00001$	$3,13 \pm 0,12$ $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,05$	$2,9 \pm 0,07$ $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,01$	$3,08 \pm 0,04$ $p_1 < 0,00001$ $p_2 < 0,05$
КАТ, мкКат/л	$67,1 \pm 3,93$	$54,74 \pm 4,07$ $p_1 < 0,05$	$66,19 \pm 2,56$ $p_2 < 0,05$	$67,29 \pm 2,07$ $p_2 < 0,05$	$61,9 \pm 0,72$ $p_3 < 0,05$

Изоҳ: p_1 – интакт даражага нисбатан фарқлар даражаси, p_2 – назоратга нисбатан, p_3 - ГК/Р кўрсаткичларига нисбатан олинган.

Рутин ва унинг комплексларини даволаш курсида 40 мг/кг дозада киритилганда УХ даражасининг назоратга нисбатан статистик жиҳатдан сезиларли пасайишига олиб келди, бунда ГК/Р УХ даражасини энг самарали тарзда $1,58 \pm 0,04$ ммол/л ($p < 0,0001$)-гача камайтирди, УХ даражасини пасайишида рутин ва ГКМ/Р комплекси камроқ фаоллик кўрсатди $1,70 \pm 0,04$ ммол/л ($p < 0,01$) ва $1,73 \pm 0,01$ ммол/л ($p < 0,001$) мос равишда ($p < 0,001$, назоратга нисбатан ва $p < 0,005$, ГК/Рга нисбатан). Рутиннинг комплекслари триглицеридлар даражасини пасайтирди: ГК/Р $1,07 \pm 0,02$ ммоль/л-гача ($p < 0,0001$) ва ГКМ/Р $1,14 \pm 0,03$ ммоль/л-гача ($p < 0,001$), рутиннинг ўзи эса бундай таъсир кўрсатмади. Фақат ГК/Р комплекси ПЗЛП даражасини назоратга нисбатан сезиларли камайтирди: $0,98 \pm 0,02$ ммоль/л ($p < 0,05$) кўрсаткичгача камайтириб, рутинга ($1,11 \pm 0,04$, $p < 0,01$) қараганда самаралироқ бўлиб чиқди. ЮЗЛП даражаси ўлчанганда бошқача ҳолат кузатилди: рутин, ГК/Р ва ГКМ/Р препаратларининг ҳаммаси ЮЗЛП даражасини физиологик нормагача ортишига олиб келди, бунда комплекслар бўйича кўрсаткичлар назоратга нисбатан анча юқори бўлди: ГК/Р учун $1,7$ мартага ($0,38 \pm 0,03$ ммол/л, $p < 0,01$) ва ГКМ/Р учун $1,5$ мартага ($0,34 \pm 0,02$, $p < 0,05$) ортди. Натижада, АКнинг якуний кўрсаткичи, интакт даражадан деярли 3 марта ошиб кетди: кўрсаткичлар мос равишда $8,23$ ва $2,97$ ташкил этди, ГК/Р киритилганда энг паст $3,16$ кўрсаткични ташкил этиб, бу кўрсаткични АКнинг физиологик нормаси билан қиёслаш мумкин.

Назорат гуруҳи ҳайвонларида АК юқори бўлган гиперлипидемия ривожланиши натижасида антиоксидант тизими АОТ фаолиятида пасайиш кузатилди, бунда ЛПОнинг иккиламчи маҳсулоти бўлган МДА даражаси $2,15 \pm 0,03$ мкмоль/л-дан $3,30 \pm 0,05$ мкмоль/л ($p_1 < 0,00001$)-гача статистик ишонарли ортди. Комплексларнинг 40 мг/кг дозаси билан даволаганда қонда МДА даражасининг ГК/Р киритилганда $2,90 \pm 0,05$ мкмоль/л-гача ($p_2 < 0,01$ назоратга нисбатан) ва ГКМ/Р киритилганда $3,08 \pm 0,03$ мкмоль/л-гача ($p_2 < 0,05$) сезиларли даражада пасайишига олиб келди. Рутин ва унинг ГК билан комплекси КАТФга сезиларли терапевтик таъсир кўрсатиб ($p < 0,05$), унинг даражасини мос равишда $66,19 \pm 2,56$ ва $67,29 \pm 2,07$ мкКат/л-га орттирди. ГК/Р комплекси, ГКМ/Р комплексига нисбатан ($61,9 \pm 0,72$ мкКат/л) самаралироқ ($p < 0,05$) бўлиб чиқди. Шундай қилиб, рутин билан ГК ва ГКМ комплексларининг фаоллиги *in vivo* моделларида қиёсланганда рутин билан ГК комплекси самарали бўлди. Натижада кейинги тадқиқотларда 4:1 моляр нисбатдаги ГК/Р комплекси танлаб олинди ва ушбу комплекс Рутиннинг янги эрувчан шакли - Глирутин деб номланди.

Каррагенин билан ҳосил қилинган ўткир экссудатив яллиғланиш каламушларда флогоген киритилгандан кейин 3 ва 24 соатларда аниқланди. 5-жадвалда кўрсатилганидек, назорат каламушларида максимал даражадаги шиш 3 соатдан кейин ҳосил бўлди, бунда оёқ панжасининг ҳажми бошланғич кўрсаткичига нисбатан $93,8 \pm 4,6$ % шиш катталашди, 24 соатдан кейин шиш $50,0 \pm 6,5$ % кўрсаткичгача пасайди (5-жадвал). Тажрибада 20 ва 40 мг/кг дозаларда рутин қабул қилган каламушларга каррагенин киритилганидан 3

соат ўтгач, уларнинг оёқ панжаларидаги шиш $65,1 \pm 17,0\%$ ва $53,3 \pm 14,3\%$ ($p < 0,05$), 24 соатдан кейин мос равишда $17,4 \pm 3,75\%$ ва $22,4 \pm 2,47\%$ ($p < 0,01$) ҳажми ташкил этди. Глирутин препаратини 20 ва 40 мг/кг дозаларда қабул қилган каламушларда каррагенин киритилганидан 3 соат ўтиб, шиш катталиги $44,1 \pm 6,8$ ва $26,3 \pm 4,07\%$ ташкил этган бўлса, 24 соатдан кейин шиш аллақачон мос равишда $12,8 \pm 2,75$ ва $20,5 \pm 6,82\%$ пасайган, бунда барча кўрсаткичлар статистик ишончли тарзда назоратга нисбатан пастлиги аниқланди. Каррагенин киритилганидан 3 ва 24 соат ўтгач Глирутиннинг антиэкссудатив фаоллиги (АЭФ) 20 мг/кг дозада 53,0 ва 74,4%; 40 мг/кг дозада эса мос равишда 72,0 ва 59,0% назоратга нисбатан шиш катталиги ташкил этди.

5-жадвал

Рутин препарати ва Глирутиннинг каламушларда каррагенин яллиғланишининг кечишига таъсири, $M \pm m$; $n=6$

Препаратлар	Доза, мг/кг	3 соатдан кейин		24 соатдан кейин	
		Шишнинг катталиги, %	АЭФ, %	Шишнинг катталиги, %	АЭФ, %
Назорат		$93,8 \pm 4,60$	-	$50,0 \pm 6,5$	-
Рутин	20	$65,1 \pm 17,0$	31,0	$17,4 \pm 3,75^{**}$	65,2
	40	$53,3 \pm 14,3^*$	43,0	$22,4 \pm 2,47^{**}$	55,2
Глирутин препарати	20	$44,1 \pm 6,80^{***}$	53,0	$12,8 \pm 2,75^{***}$	74,4
	40	$26,3 \pm 4,07^{***}$	72,0	$20,5 \pm 6,82^*$	59,0

Изоҳ: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ назоратга нисбатан

Рутин ва Глирутиннинг яллиғланишга қарши фаолликларини «пахта гранулёма»си моделида ўрганганда, рутин экссудация даражасини назоратдаги $346,0 \pm 29,4$ мг-дан $243,3 \pm 23,3$ мг ($p < 0,05$) 20 мг/кг дозада ва $250,0 \pm 35,4$ мг 40 мг/кг дозада мос равишда камайтирди, бунда экссудация жараёнининг бостирилиши (ЭБ) мос равишда 29,7 ва 27,7% ташкил этди.

Пролиферацияни бостириш даражасининг худди шунга ўхшаш пасайиши грануляция фиброз тўқимаси массаси ўлчанганда пахта тўпчалари массасининг камайишида кузатилди: улар назоратда $86,5 \pm 9,70$ мг бўлди, рутиннинг 20 ва 40 мг/кг дозаларида мос равишда $62,2 \pm 6,98$ и $60,0 \pm 5,96$ мг ($p < 0,05$) кўрсаткичларни ташкил этди (6-жадвал). Глирутиннинг 20 ва 40 мг/кг дозалари киритилганда экссудатив жараёнларнинг бостирилиши назорат гуруҳидаги ҳайвонларга нисбатан мос равишда 34,1 ва 40,2 %-гача, пролифератив жараёнлар эса мос равишда 35,5 ва 37,8%-гача ортди. Бунда экссудатив ва грануляция фиброз тўқимаси массасининг камайиш кўрсаткичлари статистик ишончли даражада назоратдан 1,5 ва ундан ортик бўлди.

Кейинги тадқиқотлар липидларнинг пероксидланиши (ЛПО), малон диалдегиди (МДА), диен конъюгатлар (ДК) ва жуфтлашган триенларнинг (ЖТ) қондаги миқдори ва АОСнинг (супероксиддисмутаза (СОД) ва

каталазининг (КАТ) қондаги фаоллиги) яллиғланиш муҳитидаги ҳолати бўйича тадқиқот натижалари 7-жадвалда келтирилган.

6-жадвал

Рутин препарати ва Глирутиннинг яллиғланишга қарши фаоллигини «пахта гранулёма»си моделида ўрганиш ($M \pm m$; $n=6$)

Гуруҳлар	Доза (мг/кг)	экссудат массаси	экссудациянинг бостирилиши, %	гранулёма массаси, мг	пролиферациянинг бостирилиши, %
назорат	-	346,0±29,4	-	86,5±9,70	-
Рутин	20	243,3±23,3*	29,7	62,2±6,98	28,1
	40	250,0±35,4	27,7	60,0±5,96*	30,0
Глирутин	20	228,0±22,4*	34,1	55,8±7,4*	35,5
	40	207,0±4,62**	40,2	53,8±8,8*	37,8

Изоҳ: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$ назоратга нисбатан

7-жадвал

Рутин препарати ва Глирутиннинг каламушларда «пахта гранулёма»си моделида яллиғланиш ривожланганда ЛПО ва АОТ ҳолатларига таъсири, ($M \pm m$; $n=6$)

Кўрсаткичлар	МДА, нмоль/л	ДК, U/мл	ЖТ, U/мл	СОД, U/мл	Каталаза, мКат/л	
Интакт гуруҳ	10,24±1,35	1,34±0,08	0,24±0,05	14,5±0,6	8,6±0,8	
Назорат гуруҳи	20,9±0,8	2,5±0,3	0,7±0,1	10,9±0,3	4,7±0,4	
Рутин, мг/кг	20	15,05±1,83*	1,79 ±0,19	0,5±0,08	12,1±1,3	6,17±0,9*
	40	14,69 ±1,92**	1,78±1,14	0,49±0,06	12,43±1,4	6,36±0,61*
Глирутин, мг/кг	20	13,77±2,09 **	1,63±0,13*	0,45±0,04*	13,19±0,95*	7,06±0,58**
	40	13,0±1,58***	1,48±0,16*	0,41±0,05*	12,97±1,1	7,63±0,8**

Изоҳ: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,005$ назоратга нисбатан

Назорат гуруҳидаги ЛПОнинг аниқланган маҳсулотларини интакт даража билан солиштирилганда 2 марта ва ундан кўп ортиши кузатилди: МДА назоратда 20,9±0,8 нмоль/л, ДК назоратда 2,5±0,3 U/мл, ЖТ назоратда 0,7±0,1 U/мл ташкил этди, АОТ ферментлари фаоллиги СОД интакт хайвонларда (назоратда 10,9±0,3 U/мл) бунда 1,5 мартага, КАТ (назорат гуруҳида 4,7±0,4 мКат/л), деярли 2 мартага камайди.

Рутин 20 ва 40 мг/кг дозаларда киритилганда ЛПО маҳсулотлари МДА, ДК ва ЖТ даражаларининг назоратга нисбатан МДА, ДК ва СТ кўрсаткичлари мос равишда 28,0-29,7 ва 27,7-30 % кўрсаткичгача камайиши кузатилди. Глирутин киритилганда эса бу кўрсаткичларда янада камайишга томон оғишлар кузатилиб статистик аҳамиятли қийматга эришилди. Рутин учун назоратга нисбатан аҳамиятли фарқ МДА маҳсулотидагина кузатилди: назоратда 20,9±0,8 нмоль/л, Рутиннинг 20 мг/кг дозасида 15,05±1,83 нмоль/л ($p < 0,05$) ва 40 мг/кг дозасида 14,69 ±1,92 нмоль/л ($p < 0,01$) ташкил этди. Ушбу кўрсаткичлар даражаси Глирутин 20 мг/кг дозада киритилганда назоратдан 34,1-35,5%, 40 мг/кг дозада киритилганда эса 37,8-40,2% статистик аҳамиятли даражада ($p < 0,05$) пастлиги аниқланди. Тадқиқ қилинаётган препаратларнинг 20 ва 40 мг/кг дозалари организмнинг АОТ ҳолатига ҳам самарали таъсир кўрсатди: рутин киритилганда КАТ савияси 1,35 марта, мос

равишда $6,17 \pm 0,9$ ва $6,36 \pm 0,61$ мКат/л-гача ва Глирутин киритилганда $1,5$ мартагача, $7,06 \pm 0,58$ ва $7,63 \pm 0,8$ мКат/л кўрсаткичгача ортиши аниқланди. СОД фаоллигининг ортиши фақат Глирутин нинг 20 мг/кг дозасидагина кузатилди.

Шундай қилиб, каррагенинли шиш ва «пахта гранулёма»си моделларида Глирутиннинг 20 ва 40 мг/кг дозаларда юқори антиэкссудатив, антипролифератив ва антиоксидант фаоллик кўрсатди.

Кейинчалик, рутин учун терапевтик доза каламушларда каррагенинли шиш моделида АЭФ бўйича 5 дан 200 мг/кг-гача, Глирутин препарати учун эса 5 дан 100 мг/кг-гача ораликдаги дозалардан танланди (8-жадвал). Рутиннинг оптимал дозаси 100 мг/кг миқдорни ташкил этиб, ушбу дозада максимал шишнинг 3 соатдан кейинги ҳажми (бошланғич ҳажмдан $52,30 \pm 5,3\%$) назорат кўрсаткичларидан статистик ишонарли камайди ($117,80 \pm 19,3\%$, $p < 0,05$), АЭФ $58,8\%$ ташкил этди. Рутиннинг дозаси 200 мг/кг гача орттирилганда антиэкссудатив таъсир сақланиб қолди ва АЭФ – $50,9\%$ ташкил этди, бу ҳолатда шишнинг катталиги дастлабкисидан $61,80 \pm 5,9\%$ ҳажмгача этди, бу эса назоратдан сезиларли даражада паст, $p < 0,05$. Препаратнинг дозаси камайтирилганда антиэкссудатив таъсир мос равишда камайди.

8-жадвал

Каррагенинли шишда Рутин препарати ва Глирутиннинг антиэкссудатив фаоллигининг дозага боғлиқлиги ($M \pm m$; $n=5$)

Препаратлар	Дозалар, мг/кг	Шишнинг ҳажми 3 соатдан кейин, %	Тафовутларнинг аҳамиятлилик даражаси, p		АЭФ, %
			Назорат	ГК/Р, 5 мг/кг	
Назорат		$117,80 \pm 19,3$			-
Рутин	5	$85,90 \pm 7,1$		$P < 0,01$	26,50
	10	$86,30 \pm 3,2$		$P < 0,0001$	26,50
	20	$82,60 \pm 3,8$		$P < 0,0001$	29,40
	40	$82,80 \pm 4,3$		$P < 0,001$	17,60
	100	$52,30 \pm 5,3$	$P < 0,05$		58,80
	200	$61,80 \pm 5,9$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	50,90
Глирутин препарати	5	$44,80 \pm 2,9$	$P < 0,01$		61,80
	10	$59,30 \pm 9,8$	$P < 0,05$		52,90
	20	$60,70 \pm 3,2$	$P < 0,05$	$P < 0,01$	50,00
	40	$56,20 \pm 2,1$	$P < 0,05$	$P < 0,05$	54,40
	100	$88,70 \pm 6,4$		$P < 0,001$	30,90

Глирутин супрамолекуляр комплекси таъсирида эса бутунлай тескари кўриниш намоён бўлди: препаратнинг дозаси камайиши билан унинг фаоллиги ортди. Глирутин препарати 5 дан 40 мг/кг-гача кичкина дозалар киритилганда шишнинг статистик ишонарли тарзда кичрайиши кузатилди, бунда 5 мг/кг доза киритилганда шишнинг энг юқори камайиши кузатилиб,

дастлабкисига нисбатан $44,80 \pm 2,9\%$ ҳажмни ташкил этди ($p < 0,01$ назоратга нисбатан), бунда АЭФ $61,80\%$ бўлди ва ушбу кўрсаткич ўрганилаётган препаратлар орасида энг юқори фаолликдир. Шундай қилиб, каррагенинли шиш моделида рутиннинг терапевтик дозаси 100 мг/кг , Глирутин препарати учун 5 мг/кг миқдори ташкил этди.

Рутин, ГК ва Глирутин препарати антирадикал фаоллигини (АРФ) баҳолаш учун ДФПГ (2,2 дифенил-1-пикрилгидразил) эркин радикалини (эркин радикал концентрацияси $0,1 \text{ мМ}$) аниқлаш бўйича *in vitro* тадқиқотлари натижаларига кўра, рутин 325 мкМ концентрацияда АРФ намоён қилди. Бунда 23% ДФПГ молекулалари норадикал шаклга ўтди. Глирутиннинг АРФ $0,9 \text{ мМ}$ концентрацияда намоён бўлди, бунда рутиннинг комплекс таркибидаги солиштирма миқдори $15,6\%$ ташкил этди, яъни рутиннинг эквивалент нисбатида комплекс яққол АРФ намоён қилади (9-жадвал).

9-жадвал

Тадқиқ қилинаётган препаратларнинг АРФни миқдорий баҳолаш

Препаратлар	IC_{50} , мкМ	50 мкМ модда учун t_{50} , сония
ГК	0	∞
Рутин	$8,3 \pm 1,2$	65 ± 6
Глирутин	$7,4 \pm 1,4$	58 ± 5

ГКнинг ўзи фаоллик намоён қилмади. Хона ҳароратида t_{50} ДФПГ билан рутин, ГК ва Глирутиннинг реакциясида мос равишда 65 ± 6 ва 58 ± 5 сонияни ташкил этди, яъни Глирутиннинг реакцияга киришиш қобилияти рутинга нисбатан устундир.

Препаратларнинг адреналиннинг аутооксидланиш реакциясини ингибирлаши бўйича АРФни *in vitro* шароитида олинган натижалар кўра, Глирутиннинг $0,1 \text{ мг/мл}$ концентрацияда адреналин аутооксидланиш реакциясини *in vitro* шароитида рутинга қараганда кучлироқ ингибирлади. Концентрациянинг янада оширилиши ўрганилаётган препаратлар ўртасидаги сезиларли фарқларни тенглашишига олиб келди. ГК $0,1-1,0 \text{ мг/мл}$ концентрацияларда адреналин аутооксидланиш реакциясини ингибирлашда АРФ намоён қилмади. Олинган натижаларга кўра, ГКнинг ўзида АРФ йўқлигини ҳисобга олсак рутин ва ГК комплекси бўлган Глирутин препаратиди АРФнинг ортиши фақат рутин эрувчанлигининг ортиши ва шу билан бирга биологик таъсирнинг кучайиши билан тушинтирилади, чунки комплексидаги рутиннинг улуши 15% ташкил этади.

Шундай қилиб, ўтказилган тадқиқотлар давомида 4:1 нисбатдаги ГК/Р супрамолекуляр комплексида капилляр-протектор, яллиғланишга қарши, антиоксидант ва гипополидемик хоссаларга эга бўлган рутиннинг янги эрувчан шакли - Глирутин олинди. Унинг каламушларга киритиладиган оптимал дозаси 5 мг/кг бўлиб, ушбу доза рутиннинг дозасидан 20 марта пастдир (100 мг/кг).

Диссертациянинг «Глирутин препаратининг фармакотоксикологик тадқиқотлари» деб номланган тўртинчи бобида янги Глирутиннинг хавфсизлиги бўйича, Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2018 йил 23 мартдаги 213-сонли “Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техникани давлат рўйхатидан ўтказиш ҳамда рўйхатдан ўтказилганлик гувоҳномаси бериш тартиби тўғрисидаги низомни тасдиқлаш ҳақида” қарорига мувофиқ, клиникаолди синови натижалари баён қилинган.

Глирутин препарати ва рутин ошқозонга юборилганда ЛД₅₀>10000 мг/кг ташкил этди, яъни бу препаратлари ўткир заҳарлаш хусусияти бўйича кимёвий бирикмаларнинг нисбатан зарарсиз VI синфига оидлиги аниқланди. Бунда Глирутиннинг терапевтик дозаси (ЛД₅₀-нинг терапевтик дозага нисбати) рутиндан 20 мартага катта бўлиб чиқди. Шунингдек, Глирутин препарати кумулятив хоссага эга эмаслиги кўрсатиб берилди.

Глирутиннинг сурункали заҳарлаш тадқиқотларида ушбу препарат ҳар куни қуёнларга 2,0; 4,0 ва 8,0 мг/кг дозаларда ва каламушларга 5,0; 10,0 ва 20,0 мг/кг дозаларда 30 кун давомида киритилиб, 10- ва 30-кунларда бир қатор катталиклар аниқланди: периферик қон кўрсаткичларига ва қон ишлаб чиқаришни ингибирловчи заҳарли таъсирлари қайд этилмади; жигар ва буйрақлар функциялари кўрсаткичларига заҳарли таъсир кўрсатмади. Глирутин препарати қуёнлар ошқозонга кўп марталаб 2,0; 4,0; 8,0 мг/кг киритилганда, 30 кунда гипокоагуляция ривожланиши кузатилди (10-жадвал).

10-жадвал

Қуёнларга 10, 30 кун Глирутин препарати ҳар хил дозаларда кўп марталаб киритилганда қон ивишининг ўзгариш динамикаси (M±m; n=4)

ТЭГ кўрсаткичлари	назорат	Глирутин, мг/кг		
		2,0	4,0	8,0
10 кундан кейин				
Р қон реакцияси вақти, мм	50,4±4,1	57,4±3,5	67,1±5,7	63,1±5,9
К қуйқа ҳосил бўлиш вақти, мм	15,2±1,0	16,2±1,3	16,8±1,5	17,8±1,4
Максимал амплитуда, МА, мм	69,1±4,6	64,2±5,6	66,4±5,1	58,6±5,2
30 кундан кейин				
Р қон реакцияси вақти, мм	52,9±5,8	71,8±4,0*	77,3±5,8*	82,3±7,1*
К қуйқа ҳосил бўлиш вақти, мм	17,1±1,6	20,2±2,3	21,9±1,8	23,7±1,9*
Максимал амплитуда, МА, мм	67,2±5,2	57,9±5,2	56,4±4,5	52,3±4,8

Изоҳ: * - p < 0,05 назоратга нисбатан

«Очиқ майдон» тестида бутун тажриба давомида Глирутин препарати ҳайвонлар организми вегетатив таъсирчанлигига ва ўрганувчи фаоллигига (ҳидланган «тешиқлар» сони, «нажаслар» сони, ювинишлар сони) сезиларли таъсир кўрсатмади, бироқ тажрибанинг 30 кундаги таҳлилларда препаратнинг седатив таъсири кузатилиб, ушбу таъсир квадратларни кесиб

ўтишлар (горизантал ҳаракат фаоллиги) ва тик туришлар (вертикал ҳаракат фаоллиги) сонининг камайишида акс этди.

Глирутиннинг специфик заҳарлилиги ўрганилганда, препаратнинг маҳаллий ачиштирувчи таъсири 0,5% ва 5,0 % концентрацияларда бир марта тери устига суртилганда қизартирувчи, терининг шишиши ва бошқа кўзга кўринадиган таъсирлари кузатилмади. Мутаген фаоллиги сичқон илик кўмиги хужайраларида хромосома аберрациялари манфий назорат билан қиёсий *in vivo* тадқиқ қилинганда, назорат ва тажриба гуруҳларида хромосома аберрациялари кўрсаткичлари бир-биридан фарқ қилмади. Глирутиннинг каламушларнинг эмбриотоксик, тератоген хусусиятларига ва репродуктив функциясига салбий таъсири йўқлиги исботланди.

Тадқиқот натижалари комплексларнинг биологик фаоллиги танланган ташувчига ва компонентларнинг нисбатига боғлиқ эканлигини кўрсатди, бу ҳолда ГКнинг ўзи моноаммоний тузига нисбатан рутиннинг самаралироқ ташувчиси бўлиб чиқди. Айтилишича паст дозали ГК/Р комплекси рутиннинг ўзига нисбатан юқори фаоллик кўрсатди, бу бевосита рутиннинг ГК билан комплексларида эрувчанлигининг яхшиланиши ва унинг мембрана орқали осон ўтишининг таъминланиши, шунингдек, иккита препаратнинг бир бирига синергетик таъсири билан боғлиқдир. Буларнинг барчаси ҳамда таъсир қилувчи препаратни тез метаболизмдан ҳимоя қилувчи ГК «капсулалари»нинг мавжудлиги терапевтик дозани бир неча мартага камайтириш имконини берди. Глирутиннинг хавфсизлиги бўйича тадқиқот натижалари ушбу препаратни тиббиёт амалиётида қўллашнинг истиқболлилигини кўрсатди.

ХУЛОСАЛАР

1. Рутиннинг глицирризин кислотаси ва унинг моноаммонийли тузи билан супрамолекуляр комплекслари компонентларининг оптимал нисбати капилляр-протектор хоссалари бўйича 4:1 нисбат эканлиги *in vivo* аниқланди.

2. Ҳар хил *in vivo* тажриба моделларида рутин учун оптимал ташувчи сифатида глицирризин кислотаси танланди: Рутиннинг глицирризин кислотаси комплекси, унинг моноаммонийли тузи комплексига нисбатан биокимёвий кўрсаткичлар бўйича 1,4 мартага самарали бўлиб чиқди: тажрибадаги малон диальдегиди - $2,185 \pm 0,164$ назоратга $3,113 \pm 0,129$ нмоль/мг нисбатан камайди ($p < 0,0001$), каталаза фаоллиги - $67,29 \pm 2,07$ назоратга $61,9 \pm 0,72$ мкКат/л нисбатан ортди ($p < 0,05$), умумий холестерин даражаси - $1,58 \pm 0,04$ назоратга $1,73 \pm 0,01$ ммоль/л нисбатан ($p < 0,005$) ва паст зичликдаги липопротеинлар даражаси - $0,98 \pm 0,02$ назоратга $1,15 \pm 0,04$ ммоль/л нисбатан камайди ($p < 0,01$).

3. Яллиғланиш *in vivo* тажриба моделларида танлаб олинган комплекс (рутиннинг янги эрувчан шакли - Глирутин) липидларни переоксидланиш маҳсулотларининг назоратга нисбатан сезиларли камайиши: малон диальдегиди - $20,9 \pm 0,8$ дан $13,77 \pm 2,09$ нмоль/л-гача ($p < 0,01$), диен конъюгати - $2,5 \pm 0,3$ дан $1,63 \pm 0,13$ ЕД/мл-гача ($p < 0,05$), жуфтлашган триенлар

- $0,7 \pm 0,1$ дан $0,45 \pm 0,04$ ЕД/мл-гача ($p < 0,05$); ва антиоксидант тизими ферментларининг фаоллашувига олиб келди: супероксиддисмутаза - $10,9 \pm 0,3$ дан $13,19 \pm 0,95$ ЕД/мл-гача ($p < 0,05$) ва каталаза - $4,7 \pm 0,4$ дан $7,06 \pm 0,58$ мКат/л-гача ($p < 0,01$).

4. Рутиннинг каламушлар учун терапевтик дозаси яллиғланишнинг *in vivo* тажриба моделларида 100 мг/кг, Глирутиннинг терапевтик дозаси 5 мг/кг ташкил этди, Глирутиннинг терапевтик индекси рутиннинг терапевтик индексидан 20 марта катта эканлиги аниқланди.

5. Рутин билан ҳосил қилинган комплекда, рутиннинг тўғридан тўғри *in vitro* антиоксидант (антирадикал) хусусияти ортди ($p < 0,05$).

6. Глирутин препарати кимёвий моддаларни таснифлаш бўйича нисбатан зарарсиз моддалар VI синфига оидлиги, куммулятив хоссаларга, маҳаллий ачиштирувчи, мутаген, эмбриотоксик, тератоген таъсирларга эга эмаслиги, ҳайвонлар репродуктив функциясига салбий таъсир кўрсатмаслиги аниқланди.

7. Глирутин препарати сурункали заҳарлаш тажрибаларида ҳайвонларда қоннинг хужайра таркибига, жигар (қонда умумий оқсил, глюкоза, мочевина, АЛТ, АСТ ферментларининг фаоллик даражаси назоратдан фарқ қилмади) ва буйрак функциясига (сийдикда оқсил, глюкоза, кетонлар, уробилин, биллурибин йўқлиги) заҳарли таъсир кўрсатмаслиги, Глирутин 30 кун давомида киритилганда антикоагулянт таъсири борлиги аниқланди ($p < 0,05$).

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

ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ

БАРАТОВ КУЗИЖОН РАББИМ УГЛИ

**ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ
РУТИНА**

03.00.01 – Биохимия

**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 под номером B2019.2.PhD/B290.

Диссертационная работа выполнена в Институте биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана.

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:

Тагайалиева Нигора Абдунабиевна
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Официальные оппоненты:

Юлдашев Насирджан Мухамеджанович
доктор биологических наук, профессор

Абдуллаева Муборак Махмусовна
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация:

Андижанский Государственный университет

Защита диссертации состоится « 12 » января 2022 г. в 14⁰⁰ часов на заседании Научного Совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана. (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 № 31). 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: « 29 » января 2021 года.
(реестр протокола рассылки № « 1 » от 29 января 2021 года).



[Handwritten signature]

Сабиров Равшан Заирович
Председатель Научного совета
по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

[Handwritten signature]

Позилев Маъмуржон Комилжонович
Ученый секретарь Научного совета
по присуждению ученых степеней, д.б.н.

[Handwritten signature]

Кадирова Дилбар Абдуллаевна
Председателя Научного семинара при Научном совете
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Во всем мире лекарственные растения приобрели значение в системе здравоохранения благодаря эффективным терапевтическим свойствам их биологически активных компонентов. Наиболее изученными среди них являются фенольные соединения, в том числе и флавоноиды рутин и кверцетин. Эти флавоноиды обладают антиоксидантной, противовоспалительной, цитопротекторной, вазопротекторной, противоопухолевой, нейро- и кардиопротекторной, антимикробной, противовирусной и др.

Основным механизмом их действия на клетку, благодаря которому обеспечивается столь широкий спектр эффектов, является наличие высоких антиоксидантных свойств. Но, несмотря на их выраженную биологическую активность в различных системах *in vitro*, биологические эффекты *in vivo* ограничены низкой биодоступностью этих флавоноидов. Использование систем доставки рутина или получение высокорастворимых производных может улучшить биодоступность рутина, что послужит повышению его значимости и перспективности для профилактики и/или лечения различных хронических заболеваний человека. В связи с этим повышение растворимости рутина в воде и липидной фракции стало основой создания новых видов лекарственных средств для применения при различных патологиях.

В настоящее время в нашей стране особое внимание уделяется разработке перспективных лекарственных средств. В поддержку этого в 4-направлении Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены задачи по «дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, улучшению обеспечения населения и медицинских учреждений доступными, качественными лекарственными средствами»¹. Для решения данных задач использование препаратов на основе растительных компонентов, а именно глицирризиновой кислоты и ее производных, имеет актуальное значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит решению задач, определенных в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» № УП-4947, предусмотренных в Постановлении Президента Республики Узбекистан ПП-3489 от 23 января 2018 года «О мерах по регулированию производства и импорта лекарственных средств и предметов медицинского назначения», Постановлении Президента Республики Узбекистан ПП-3532 от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», Указе Президента Республики Узбекистан УП-5707 10 апреля 2019 года «О дальнейших мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли

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

республики в 2019-2021 годах», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в этой сфере.

Взаимосвязь исследования с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий Республики VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Во многих научных центрах проводятся исследования по поиску различных способов повышения растворимости лекарственных препаратов, и это направление в современной науке определилось как нанофармакология. Для повышения растворимости рутина применение наночастиц в виде нанокапсул, наноэмульсий, в том числе желатинированных; создание комплексов с циклодекстрином, фосфолипидами; получение гидроксиэтилированных (Венорутон и др.), карбоксильных и сульфонатных производных (100-кратное увеличение растворимости), синтез олигомеров (4200-кратное) и др. В частности, группа итальянских ученых во главе с Cosco микроинкапсулировали рутин в хитозановую матрицу, с его контролируемым высвобождением. Улучшение противовоспалительной активности рутин-нагруженных микросфер подтверждено *in vivo* и *in vitro* исследованиями. Babazadeh с соавторами создали инкапсулированную форму рутина с фосфатидилхолином (ФХ) с образованием комплекса ФХ-рутин, известного как нанофитосома, что позволило повысить растворимость в воде и биодоступность. Saragisa и др. предложили использовать ионную жидкость в качестве носителя для рутина.

В странах СНГ О. Ю. Селютина и Н. Э. Поляков занимаются исследованиями по комплексообразованию гидрофобных лекарственных соединений с глицерризиновой кислотой, механизму повышения биодоступности таких комплексов, в том числе и за счет мембраномодифицирующей активности глицерризиновой кислоты. Яковишин Л.А. со своей группой изучают молекулярные комплексы с рядом тритерпеновых гликозидов с различными биологически активными веществами, в том числе и с широкоприменяемыми Фармакопейными Лекарственными Препаратами. В Казахстане под руководством Т. М. Сейлханова изучаются циклодекстриновые комплексы включения биологически активных соединений, фармацевтических препаратов и лекарственных средств.

В нашей республике исследования по повышению доступности лекарственных препаратов с использованием глицерризиновой кислоты и ее производных проводятся в нескольких научных лабораториях. В Институте биоорганической химии исследования в этом направлении были начаты д.х.н. проф. Далимовым Д.Н. и продолжены его учениками Гафуровым М.Б. и Матчановым А.Д. К настоящему времени получены препараты на основе сурамолекулярных комплексов глицерризиновой кислоты и ее производных с ацетилсалициловой кислотой (Глас), преднизолоном (Глипред),

Лагохилином (Глилагин), мегосином (Мегаферон), изониазидом (Туглизид) и др.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках научного проекта ФА-А11-Т070 «Создание и разработка эффективного иммуномодулятора на основе местного растительного сырья» (2015-2017) согласно плану научно-исследовательских работ Института биоорганической химии.

Целью исследования является выбор наиболее эффективного препарата среди комплексов рутина с тритерпеновыми гликозидами по их биологической активности на различных моделях *in vivo* и *in vitro*.

Задачи исследования:

определить оптимальное молярное соотношение компонентов в супрамолекулярных комплексах рутина с глицирризиновой кислотой (ГК/Р) и моноаммониевой солью глицирризиновой кислоты (МГК/Р) по капилляропротекторным свойствам *in vivo*;

выбрать по биохимическим параметрам на различных экспериментальных моделях (воспаления, атеросклероз) *in vivo* оптимальный носитель для рутина в супрамолекулярном комплексе;

изучить по биохимическим и фармакологическим показателям противовоспалительную активность отобранного комплекса (новой растворимой формы рутина - Глирутина) с определением терапевтической дозы *in vivo*;

определить влияние комплексообразования рутина с ГК на его антиоксидантные (антирадикальные) свойства *in vitro*;

провести общие и специфические токсикологические испытания препарата Глирутин на безопасность согласно требованиям Фармкомитета МЗ РУз как потенциального лекарственного препарата.

Объектами исследования являются рутин, глицирризиновая кислота, моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты, комплексы рутина с глицирризиновой кислотой и с моноаммониевой солью глицирризиновой кислоты в различных соотношениях.

Предметом исследования являются определение антиоксидантного, противовоспалительного, гиполипидемического действия полученных супрамолекулярных комплексов на лабораторных животных с нормальным и различными патологическими состояниями, а также оценка токсического влияния препарата Глирутин в ходе доклинических испытаний.

Методы исследования. В диссертационной работе для определения антиоксидантной, противовоспалительной, гиполипидемической и антирадикальной активностей различных комплексов рутина с ГК и его производными использовали биохимические, физико-химические методы, а также фармакологические экспериментальные модели проницаемости капилляров («синего трипана»), воспаления («каррагениновый отек» и «ватная гранулема») и атеросклероза («твиновая модель»). Исследования

общей и специфической токсикологии препарата Глирутин проводились цитологическими, биохимическими и общепринятыми фармакотоксикологическими методами.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

установлено, что оптимальным соотношением тритерпеновых гликозидов и рутина в супрамолекулярном комплексе является молярное соотношение 4:1; а оптимальным носителем оказалась ГК; комплекс ГК/Р в молярном соотношении 4:1 назван Глирутином;

доказано значительное повышение антиэкссудативной, капилляропротекторной и гиполипидемической активности *in vivo*, а также антирадикальной активности *in vitro* рутина в составе Глирутина;

установлено на крысах 20-кратное снижение терапевтической дозы Глирутина (5мг/кг) по сравнению с самим рутином (100 мг/кг);

в ходе доклинических испытаний показана безопасность препарата Глирутин на организм животных по показателям острой токсичности, кумулятивности и хронической токсичности; местно-раздражающего, мутагенного, эмбриотоксического, тератогенного действия и влияния на репродуктивность.

Практическое значение результатов исследования заключается в том, что показана перспективность использования рутина в комплексе с глицирризиновой кислотой как низкодозового препарата, а также дана полная его характеристика как безопасного средства (VI класс - Относительно безвредных веществ).

Достоверность результатов исследований подтверждается тем, что экспериментальные данные получены на достаточном количестве лабораторных животных с использованием адекватных биохимических, фармакологических, физиологических, гематологических и токсикологических методов, статистической обработкой полученных результатов, практической реализацией результатов исследований, их обсуждением на республиканских и международных научных конференциях, публикацией результатов исследования в рецензируемых научных изданиях.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования заключается в том, что впервые представлены данные по биологической активности комплекса рутина с глицирризиновой кислотой и моноаммониевой солью глицирризиновой кислоты в различных соотношениях в условиях физиологической нормы и патологических состояниях (пролиферативное и экссудативное воспаление, гиперлипидемия);

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что в результате проведенных экспериментов получен безопасный низкодозовый препарат Глирутин, супрамолекулярный комплекс рутина с ГК в соотношении 1:4, с высокими антиоксидантными, противовоспалительными, гиполипидемическими свойствами и проведено полное доклиническое исследование данного фармакологического препарата.

Внедрение результатов исследований. На основании полученных результатов по изучению биологической активности рутина, ГК, ее моноаммониевой соли, а также их комплексов:

результаты исследований по изучению антиоксидантной активности супрамолекулярных комплексов рутина с ГК и ее моноаммониевой солью в различных молярных соотношениях были использованы при определении антиоксидантных, гипогликемических, антирадикальных свойств полифенолов, таннинов, флавоноидов и их производных в проекте ФА-А10-Т053 «Разработка метода коррекции окислительного стресса при сахарном диабете с использованием природных соединений из местного сырья» (Справка Академии Наук Республики Узбекистан №4/1255-1615 от 2 июня 2021года). В результате, это дало возможность выбрать среди препаратов соединения с высокими антиоксидантными свойствами;

на основе результатов о наличии *in vivo* капилляропротекторных и антиоксидантных свойств ГК и ее моноаммониевой соли показана необходимость получения новых производных ГК и, опираясь на это, при выполнении прикладного проекта ФПФИ-Т.2-18 «Биологическая активность новых производных некоторых природных тритерпеновых кислот, содержащих остатки 2-алкил (арил)-5-амино-1,3,4-тиадиазола» синтезировано 14 новых производных ГК (Справка Академии Наук Республики Узбекистан №4/1255-1614 от 2 июня 2021года). В результате, это дало возможность проведения отбора среди производных наиболее активных по противовоспалительным, гипоксическим и иммуностропным свойствам для получения нового перспективного препарата.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были обсуждены на 3 международных и 6 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 6 научных статей, в том числе 2 в республиканском и 4 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации, в том числе 1 статья в базе Scopus и 1 статья в базе Web of Science.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 115 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во **введении** представлены актуальность, цель и задачи, объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, раскрыты научная новизна и практические результаты исследования, научно-практическая значимость полученных результатов, даны сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Перспективы применения глицирризиновой кислоты и ее производных в качестве носителя для рутина»** анализируется научная литература по биологической активности глицирризиновой кислоты и ее производных, по их широкому применению при вирусных гепатитах и других патологиях. В тоже время рассматривается другое уникальное свойство этих биологически активных веществ, а именно выступать как носители плохорастворимых веществ в виде супрамолекулярных комплексов. В качестве агента для носителя в работе рассматривается возможность использования рутина, одного из наиболее распространенных флавоноидов, для которого показан широкий спектр эффектов за счет высоких антиоксидантных потенциалов. Также в обзоре представлены проводимые в мире исследования по повышению растворимости рутина, а вместе с этим и его биодоступности, путем применения носителей различной природы.

Во второй главе диссертации **«Методы исследования биологической активности супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты и ее производных с рутином»** приведены материалы и методы, использованные для решения поставленных задач. В частности, были применены методы биохимического анализа уровня липидного спектра крови, антиоксидантной системы (в условиях физиологической нормы в митохондриях печени, в крови на моделях с патологией), маркеров воспаления. Описаны использованные модели: индуцированной гиперлипидемии, асептического воспаления каррагенинового отека, «ватной гранулемы», оценки капилляропротекторных свойств препаратов. Приведены методы доклинических исследований фармако-токсикологии наиболее активного комплекса для определения безопасности препарата, описаны методы статистической обработки результатов.

Третья глава диссертации под названием **«Специфическая активность новой растворимой формы рутина (Глирутина)»** посвящена поэтапному отбору активных комплексов рутина с глицирризиновой кислотой (ГК) и моноаммониевой солью глицирризиновой кислоты (МАСГК). Выбор оптимального соотношения супрамолекулярных комплексов рутина с ГК (ГК/Р) и МАСГК (МГК/Р) проводили в сравнении с рутином на мышах на модели изучения капилляропротекторной активности по времени выхода трипанового синего в участок асептического воспаления. Доза введения 10 мг/кг веса мышей. Сравнивали по 3 молярных соотношения для каждого из комплексов: 2:1, 4:1 и 9:1 (табл.1). В обеих группах комплексов с ГК и МАСГК наиболее активным соотношением оказалось 4:1, причем ГК/Р, 4:1 проявил бóльшую активность, чем МГК/Р 4:1 ($p < 0,0001$).

Для выбора оптимального носителя для супрамолекулярного комплекса мы повторили тот же эксперимент в сравнении с рутином, ГК и МАСГК. Эффективность капилляропротекторного действия повышается в ряду: ГК < Рутин < МАСГК < МГК/Р < ГК/Р, при этом комплекс ГК/Р показал в 1,4 раза

большую капилляропротекторную эффективность, чем комплекс МГК/Р ($p < 0,01$) и в 1,6 раз, чем рутин ($p < 0,005$) (табл. 2).

Таблица 1

Оценка капилляропротекторной активности рутина и его комплексов по времени выхода трипанового синего $M \pm m$, $n=6$

Контроль	Рутин	ГК/Р			МГК/Р		
		2:1	4:1	9:1	2:1	4:1	9:1
5,8±0,5	8,8±0,9 $p_1 < 0,05$	11,8±0,3 $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$	15,8±0,3 $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,001$	11,0±0,9 $p_1 < 0,01$ $p_3 < 0,01$	9,8±0,3 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,0001$	11,5±0,3 $p_1 < 0,0001$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$	10,3±0,5 $p_1 < 0,001$ $p_3 < 0,0001$

Примечание: значимые различия: p_1 – с контролем, p_2 – с рутином, p_3 – с ГК/Р(4:1)

Таблица 2

Оценка капилляропротекторного действия исследуемых препаратов по времени выхода трипановой синего в очаг воспаления, $M \pm m$, $n=3$

Препараты, 5 мг/кг	Контроль	Рутин	ГК	ГК/Р	МАСГК	МГК/Р
Начало времени выхода, мин	5,58±0,59	9,57±0,50 $P_1 < 0,01$ $P_3 < 0,005$	7,93±0,35 $P_1 < 0,05$ $P_3 < 0,005$	15,67±0,5 $P_1 < 0,001$ $P_2 < 0,005$	9,93±0,19 $P_1 < 0,005$	11,33±0,3 $P_1 < 0,005$ $P_3 < 0,01$

Примечание: значимые различия: p_1 – с контролем, p_2 – с рутином, p_3 – с ГК/Р

При изучении антиоксидантных свойств препаратов в дозе 20 мг/кг показано уменьшение уровня малонового диальдегида (МДА) в митохондриях печени крыс в условиях физиологической нормы в ряду: МАСГК < МГК/Р < ГК < Р утин < ГК/Р (табл.3).

Таблица 3

Оценка антиоксидантных свойств исследуемых препаратов, $M \pm m$, $n=9$

Препараты, 20 мг/кг	Контроль	Рутин	ГК	ГК/Р	МАСГК	МГК/Р
МДА, нмоль/мг	3,433±0,085	2,614±0,184 $p_1 < 0,001$	3,052±0,099 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$	2,185±0,164 $p_1 < 0,000001$	3,242±0,119 $p_2 < 0,01$	3,113±0,129 $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,0001$

Примечание: значимые различия: p_1 – с контролем, p_2 – с рутином, p_3 – с ГК/Р

Дальнейшую сравнительную характеристику гиполипидемических и антиоксидантных свойств ГК/Р и МГК/Р на модели индуцированной гиперлипидемии *in vivo* у крыс проводили только с рутином (табл. 4). У контрольных животных отмечается развитие гиперлипидемии, при этом статистически значимо повышаются показатели общего холестерина с $1,39 \pm 0,05$ до $2,03 \pm 0,05$ ммоль/л ($p < 0,00001$), триглицеридов с $0,91 \pm 0,01$ до $1,44 \pm 0,07$ ммоль/л ($p < 0,000001$) и ЛПНП с $0,88 \pm 0,03$ до $1,52 \pm 0,21$ ммоль/л ($p < 0,01$). Отмечено снижение ЛПВП с $0,35 \pm 0,05$ до $0,22 \pm 0,038$ ммоль/л, но без достижения статистической значимости. Курсовое введение рутина и его комплексов в дозе 40 мг/кг приводит к статистически значимому снижению уровня ОХС по сравнению с контрольными показателями, при этом ГК/Р снижает ОХС наиболее эффективно - до $1,58 \pm 0,04$ ммоль/л ($p < 0,0001$), меньший эффект показан при введении рутина и МГК/Р, соответственно, $1,70 \pm 0,04$ ммоль/л ($p < 0,01$ относительно контроля и $p < 0,05$ относительно ГК/Р) и $1,73 \pm 0,01$ ммоль/л ($p < 0,001$ относительно контроля и $p < 0,005$ относительно ГК/Р).

Таблица 4

Гиполипидемическая активность рутина и его комплексов при индуцированной гиперлипидемии. у крыс, *in vivo* $M \pm m$, $n=10$

	Физ.норма	Контроль	Рутин, 40 мг/кг	ГК/Р, 40 мг/кг	МГК/Р, 40 мг/кг
ОХС ммоль/л	$1,39 \pm 0,05$	$2,03 \pm 0,05$ $p_1 < 0,00001$	$1,70 \pm 0,04$ $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,05$	$1,58 \pm 0,04$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,0001$	$1,73 \pm 0,01$ $p_1 < 0,01, p_2 < 0,01$ $p_3 < 0,005$
ТГ ммоль/л	$0,91 \pm 0,01$	$1,44 \pm 0,07$ $p_1 < 0,000001$	$1,22 \pm 0,16$	$1,07 \pm 0,02$ $p_1 < 0,000001$ $p_2 < 0,0001$	$1,14 \pm 0,03$ $p_1 < 0,000001$ $p_2 < 0,001$
ЛПВП ммоль/л	$0,35 \pm 0,05$	$0,22 \pm 0,038$	$0,36 \pm 0,09$	$0,38 \pm 0,03$ $p_2 < 0,01$	$0,34 \pm 0,02$ $p_2 < 0,05$
ЛПНП ммоль/л	$0,88 \pm 0,03$	$1,52 \pm 0,21$ $p_1 < 0,01$	$1,11 \pm 0,04$ $p_1 < 0,001, p_3 < 0,01$	$0,98 \pm 0,02$ $p_1 < 0,05, p_2 < 0,05$	$1,15 \pm 0,04$ $p_1 < 0,0001, p_3 < 0,01$
КА	2,97	8,23	3,72	3,16	4,09
МДА мкмоль/л	$2,15 \pm 0,04$	$3,3 \pm 0,06$ $p_1 < 0,00001$	$3,13 \pm 0,12$ $p_1 < 0,001, p_3 < 0,05$	$2,9 \pm 0,07$ $p_1 < 0,0001 p_2 < 0,01$	$3,08 \pm 0,04$ $p_1 < 0,00001, p_2 < 0,05$
КАТ, мкКат/л	$67,1 \pm 3,93$	$54,74 \pm 4,07$ $p_1 < 0,05$	$66,19 \pm 2,56$ $p_2 < 0,05$	$67,29 \pm 2,07$ $p_2 < 0,05$	$61,9 \pm 0,72$ $p_3 < 0,05$

Примечание: значимые различия: p_1 - с интактным уровнем, p_2 - с контролем, p_3 - с показателями ГК/Р

Комплексы рутина, но не сам рутин, значимо снижают уровень триглицеридов: ГК/Р до $1,07 \pm 0,02$ ммоль/л ($p < 0,0001$) и МГК/Р до $1,14 \pm 0,03$ ммоль/л ($p < 0,001$). Только комплекс ГК/Р значимо снизил ЛПНП относительно контроля: до $0,98 \pm 0,02$ ммоль/л ($p < 0,05$) и оказался эффективнее рутина ($1,11 \pm 0,04$, $p < 0,01$) и МГК/Ра ($1,15 \pm 0,04$, $p < 0,01$). Иная

картина наблюдается при измерении уровня ЛПВП: все три препарата привели к повышению их уровня до показателей физиологической нормы, при чем для комплексов показатели оказались значительно выше контроля: в 1,7 раз - для ГК/Р ($0,38 \pm 0,03$ ммоль/л, $p_2 < 0,01$) и в 1,5 раза для МГК/Р ($0,34 \pm 0,02$, $p_2 < 0,05$). В итоге, коэффициент атерогенности, КА, в контроле превышал интактный уровень почти в 3 раза: 8,23 против 2,97, соответственно, тогда как самый низкий КА показан для ГК/Р – 3,16, сопоставимый с КА при физиологической норме. В результате этого у контрольных животных наблюдается снижение антиокислительной системы (АОС), при этом значимо возрастает уровень МДА с $2,15 \pm 0,03$ мкмоль/л до $3,30 \pm 0,05$ мкмоль/л ($p_1 < 0,00001$), снижается активность каталазы (КАТ) с $67,1 \pm 3,93$ мкКат/л до $54,74 \pm 4,07$ мкКат/л ($p < 0,05$) (табл. 4). Лечение комплексами привело к значительному снижению показателей МДА в крови до $2,90 \pm 0,05$ мкмоль/л ($p_2 < 0,01$ относительно контроля) в случае введения ГК/Р и до $3,08 \pm 0,03$ мкмоль/л ($p_2 < 0,05$) - МГК/Р. Введение рутина и ГК/Р значимо ($p < 0,05$) подняло активность КАТ соответственно до $66,19 \pm 2,56$ и $67,29 \pm 2,07$ мкКат/л. ГК/Р оказался эффективнее ($p < 0,05$) МГК/Р ($61,9 \pm 0,72$ мкКат/л). Таким образом, сравнительная активность двух супрамолекулярных комплексов ГК и МАСГК с рутином на моделях *in vivo* показали большую эффективность комплекса ГК с рутином. В итоге для дальнейших исследований нами выбран комплекс ГК/Р в соотношении 4:1 и этот комплекс назван Глирутином.

Таблица 5

Влияние препаратов рутина и Глирутин на течение каррагенинового отека ($M \pm m$; n=6)

Препараты	Доза, мг/кг	Через 3 часа		Через 24 часа	
		Величина отека, %	АЭА, %	Величина отека, %	АЭА, %
Контроль		$93,8 \pm 4,60$	-	$50,0 \pm 6,5$	-
Рутин	20	$65,1 \pm 17,0$	31,0	$17,4 \pm 3,75^{**}$	65,2
	40	$53,3 \pm 14,3^*$	43,0	$22,4 \pm 2,47^{**}$	55,2
Глирутин	20	$44,1 \pm 6,80^{***}$	53,0	$12,8 \pm 2,75^{***}$	74,4
	40	$26,3 \pm 4,07^{***}$	72,0	$20,5 \pm 6,82^*$	59,0

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$ относительно контроля

Острое экссудативное воспаление, вызванное каррагенином, было изучено на крысах через 3 и 24 часа после введения флогогена. В контроле через 3 ч объем лапы увеличился на $93,8 \pm 4,6\%$ относительно исходных показателей, затем к 24 часам отек спадал до $50,0 \pm 6,5\%$ (табл.5). Отек лап у крыс, принимавших препарата рутина в дозах 20 и 40 мг/кг, через 3 часа после введения каррагенина составил $65,1 \pm 17,0\%$ и $53,3 \pm 14,3\%$ ($p < 0,05$), через 24

только $17,4 \pm 3,75\%$ ($p < 0,01$) и $22,4 \pm 2,47\%$ ($p < 0,01$), соответственно. У крыс, получавших препарат Глирутин в дозе 20 и 40 мг/кг, отек через 3 часа составил $44,1 \pm 6,8$ и $26,3 \pm 4,07\%$, затем через 24 часа - уже $12,8 \pm 2,75$ и $20,5 \pm 6,82\%$ соответственно, при этом все показатели были статистически значимо ниже контрольных значений. Антиэкссудативная активность (АЭА) через 3 и 24 часа после введения Биотурина в дозе 20 мг/кг составила 53,0 и 74,4 %, а в дозе 40 мг/кг – 72,0 и 59,0% по отношению к контролю.

Изучение противовоспалительной активности рутина и Глирутина на модели «ватной» гранулемы показало, рутин уменьшает уровень экссудации с $346,0 \pm 29,4$ мг в контроле до $243,3 \pm 23,3$ мг ($p < 0,05$) при введении 20 мг/кг и до $250,0 \pm 35,4$ мг при 40 мг/кг, при этом угнетение экссудации составило 29,7 и 27,7%, соответственно.

Подобная степень угнетения пролиферации (28,1-30,0%) обнаруживается и при измерении массы грануляционно-фиброзной ткани на ватных шариках: она уменьшается с $86,5 \pm 9,70$ мг в контроле до $62,2 \pm 6,98$ и $60,0 \pm 5,96$ мг ($p < 0,05$) при введении рутина в дозах 20 и 40 мг/кг, соответственно (табл. 6). Угнетение экссудативных процессов (УЭ) Глирутином увеличивается уже до 34,1 и 40,2% при введении 20 и 40 мг/кг препарата, и угнетение пролиферативных процессов (УП) – до 35,5 и 37,8%. При этом все показатели уменьшения экссудата и грануляционно-фиброзной ткани оказались статистически значимо в 1,5 и более раз отличными от контроля.

Таблица 6

Изучение противовоспалительной активности рутина и Глирутина на модели «ватной» гранулемы у крыс ($M \pm m$; $n=6$)

Группы	Доза, мг/кг	Масса экссудата, мг	УЭ, %	Масса грануляционно-фиброзной ткани, мг	УП, %
Контроль	-	$346,0 \pm 29,4$	-	$86,5 \pm 9,70$	-
Рутин	20	$243,3 \pm 23,3^*$	29,7	$62,2 \pm 6,98$	28,1
	40	$250,0 \pm 35,4$	27,7	$60,0 \pm 5,96^*$	30,0
Глирутин	20	$228,0 \pm 22,4^*$	34,1	$55,8 \pm 7,4^*$	35,5
	40	$207,0 \pm 4,62^{**}$	40,2	$53,8 \pm 8,8^*$	37,8

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,001$ относительно контроля

Дальнейшее исследование состояния перекисного окисления липидов, ПОЛ (содержание МДА, диеновых конъюгатов, ДК, и сопряженных триенов, СТ, в крови) и АОС (активность супероксиддисмутазы, СОД, и КАТ в крови) на фоне воспаления представлено в табл. 7.

В контроле изучаемые продукты ПОЛ возросли в 2 раза и выше и составили: МДА - $20,9 \pm 0,8$ нмоль/л, ДК – $2,5 \pm 0,3$ ЕД/мл, СТ - $0,7 \pm 0,1$ ЕД/мл, активность ферментов АОС снизились: СОД в 1,5 раза ($10,9 \pm 0,3$ ЕД/мл) и КАТ в 2 раза ($4,7 \pm 0,4$ мКат/л). При введении рутина отмечена тенденция к уменьшению уровня продуктов ПОЛ - МДА, ДК и СТ на 28,0-29,7 и 27,7-30,0%, соответственно дозе введения 20 и 40 мг/кг. При применении

Глирутина уровни этих показателей значимо ниже контроля ($p < 0,05$) на 34,1-35,5% при дозе 20 мг/кг и 37,8-40,2% при 40 мг/кг.

Таблица 7

Влияние препаратов рутина и Глирутин состояние ПОЛ и АОС при развитии воспаления на модели «ватной» гранулемы у крыс ($M \pm m$; $n=6$)

Показатели	МДА, нмоль/л	ДК, ЕД/мл	СТ, ЕД/мл	СОД, ЕД/мл	КАТ, мКат/л	
Физ. норма	10,24±1,35	1,34±0,08	0,24±0,05	14,5±0,6	8,6±0,8	
Контроль	20,9±0,8	2,5±0,3	0,7±0,1	10,9±0,3	4,7±0,4	
Рутин, мг/кг	20	15,05±1,83*	1,79 ±0.19	0,5±0,08	12,1±1,3	6,17±0,9*
	40	14,69 ±1,92**	1,78±1,14	0,49±0,06	12,43±1,4	6,36±0,61*
Глирутин, мг/кг	20	13,77±2,09 **	1,63±0,13*	0,45±0,04*	13,19±0,95*	7,06±0,58**
	40	13,0±1,58***	1,48±0,16*	0,41±0,05*	12,97±1,1	7,63±0,8**

Примечание: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,005$

Уровень КАТ значимо возрастает в 1,35 раза при введении рутина в дозах 20 и 40 мг/кг, соответственно, до 6,17±0,9 и 6,36±0,61 мкат/л, и в 1,5 раза и выше при введении Глирутина (соответственно, до 7,06±0,58 и 7,63±0,8 мкат/л). Статистически значимое увеличение активности СОД наблюдается только при введении Глирутина в дозе 20 мг/кг. Таким образом, на модели каррагенинового отека и «ватной» гранулемы показана высокая антиэкссудативная, антипролиферативная, антиоксидантная активности Глирутина в дозе 20 и 40 мг/кг.

Далее проведен выбор терапевтической дозы введения Глирутина на модели каррагенинового отека у крыс по антиэкссудативной активности (АЭА) в диапазоне доз: для рутина - от 5 до 200 мг/кг и для Глирутина - от 5 до 100 мг/кг (табл.8).

Оптимальная доза введения рутина составляет 100 мг/кг, при которой степень максимального отека через 3 ч наблюдения (52,30±5,3% от исходного уровня) статистически значимо меньше контрольных показателей (117,80±19,3%, $P < 0,05$), а АЭА составляет 58,80%. При увеличении дозы рутина до 200 мг/кг АЭА сохраняется (50,9%), величина отек доходит до 61,80±5,9% от исходного уровня ($p < 0,05$ относительно контроля). При снижении дозы рутина АЭА соответственно сокращается. Обратная картина наблюдается при действии Глирутина: с уменьшением дозы повышается активность препарата. Так, введение меньших доз от 5 до 40 мг/кг приводит к значимому уменьшению величины отека, причем наибольшее уменьшение наблюдается при введении 5 мг/кг – до 44,80±2,9% от исходного уровня ($p < 0,01$ по сравнению с контролем), АЭА составляет 61,80%, и это

наибольшая активность среди изученных препаратов. Таким образом, терапевтическая доза рутина на модели каррагенинового отека определена как 100 мг/кг, для Глирутина она составила 5 мг/кг.

Таблица 8

Дозовая зависимость антиэкссудативной активности препаратов рутин и Глирутин на модели каррагенинового отека ($M \pm m$; $n=5$)

Препараты	Дозы, мг/кг	Величина отека, %	Уровень значимости различий, p		АЭА, %
			Контроль	ГК/Р, 5 мг/кг	
Контроль		117,80±19,3			-
Рутин	5	85,90±7,1		p<0,01	26,50
	10	86,30±3,2		p<0,0001	26,50
	20	82,60±3,8		p<0,0001	29,40
	40	82,80±4,3		p<0,001	17,60
	100	52,30±5,3	p<0,05		58,80
	200	61,80±5,9	p<0,05	p<0,05	50,90
Глирутин	5	44,80±2,9	p<0,01		61,80
	10	59,30±9,8	p<0,05		52,90
	20	60,70±3,2	p<0,05	p<0,01	50,00
	40	56,20±2,1	p<0,05	p<0,05	54,40
	100	88,70±6,4		p<0,001	30,90

Согласно результатам *in vitro* исследования антирадикальной активности (АРА) рутина, ГК и Глирутина по отношению к свободному радикалуДФПГ (2,2 дифенил-1-пикрилгидразил рутин проявляет АРА при концентрации 325 мкМ: 23% молекулДФПГ переходят в нерадикальную форму. АРА Глирутина проявлялась при концентрации комплекса 0,9 мМ, при этом удельное содержание рутина составляет 15,6% в комплексе, т.е. в эквивалентном соотношении рутин, комплекс проявляет более выраженную АРА (табл. 9).

Таблица 9

Количественная оценка (IC_{50} и t_{50}) АРА исследуемых препаратов

Препараты	IC_{50} , мг/л	t_{50} , сек при 50 мкл 1 мМ p-ра
Глицирризиновая кислота	0	∞
Рутин	2,03±0,29	65 ± 6
Глирутин	1,81±0,34	58 ± 5

Глицирризиновая кислота не проявляла АРА. В реакцииДФПГ с рутином и Глирутином t_{50} при комнатной температуре составляет соответственно 65 ± 6 и 58 ± 5 с, т.е. по реакционной способности Глирутин превосходит рутин.

При исследовании АРА препаратов по ингибированию реакции аутоокисления адреналина *in vitro* в концентрации 0,1 мг/мл Глирутин значительно эффективнее ингибирует аутоокисление адреналина по сравнению с рутином. Дальнейшее повышение концентрации приводит к нивелированию значимых отличий между исследуемыми препаратами. ГК не проявляла собственной АРА по ингибированию реакции аутоокисления адреналина при использованных концентрациях 0,1-1,0 мг/мл. Если учесть факт отсутствия собственной АРА у ГК согласно нашим результатам, то повышение АРА у Глирутина объясняется повышением растворимости рутина, а вместе с этим и усилением биологического эффекта, поскольку массовая доля рутина в комплексе составляет только около 15%.

Таким образом, в ходе проведенных исследований получен супрамолекулярный комплекс ГК с рутином в соотношении 4:1, Глирутин, с капилляропротекторными, противовоспалительными, антиоксидантными, гипополипидемическими свойствами. Оптимальная доза введения животным составляет 5 мг/кг, что в 20 ниже дозы рутина (100 мг/кг).

В четвертой главе диссертации **«Фармако-токсикологические исследования препарата Глирутин»** приведены результаты доклинических испытаний на безопасность нового препарата Глирутин, Согласно Постановлению Кабинета Министров Республики Узбекистан "Об утверждении Положения о порядке государственной регистрации лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники и выдачи регистрационного удостоверения" от 23 марта 2018 года № 213.

При исследовании острой токсичности для Глирутина и рутина показаны $LD_{50} > 10000$ мг/кг (внутрижелудочное введение), т.е. эти препараты относятся к VI классу – относительно безвредных химических соединений. Соответственно расчетам, Терапевтический индекс (отношение LD_{50} к терапевтической дозе) Глирутина оказался в 20 раз выше рутина. Также показано отсутствие кумулятивных свойств у Глирутина.

Дальнейшее изучение хронической токсичности Глирутина проводили на фоне ежедневного введения препарата кроликам (в дозах 2,0; 4,0 и 8,0 мг/кг) и крысам (в дозах 5,0; 10,0 и 20,0 мг/кг) в течение 30 дней, на 10 и 30 сутки эксперимента определяли ряд параметров: показано отсутствие токсического воздействия на показатели периферической крови, ингибирования процессов кроветворения, а также на функциональные показатели печени и почек.

Изучение влияния препарата Глирутин на процесс свертывания крови кроликов при многократном применении 2,0; 4,0 и 8,0 мг/кг на 30 картина свертываемости крови говорит о развитии гипокоагуляции (табл. 10).

Таблица 10

Динамика изменения свертываемости крови кроликов через 10 дней при хроническом введении препарата Глирутин ($M \pm m$; $n=4$)

Показатели ТЭГ	Контроль	Глирутин, мг/кг		
		2,0	4,0	8,0
Через 10 дней				
Время реакции крови, R, мм	50,4±4,1	57,4±3,5	67,1±5,7	63,1±5,9
Время образования сгустка, K, мм	15,2±1,0	16,2±1,3	16,8±1,5	17,8±1,4
Максимальная амплитуда, MA, мм	69,1±4,6	64,2±5,6	66,4±5,1	58,6±5,2
Через 30 дней				
Время реакции крови, R, мм	52,9±5,8	71,8±4,0*	77,3±5,8*	82,3±7,1*
Время образования сгустка, K, мм	17,1±1,6	20,2±2,3	21,9±1,8	23,7±1,9*
Максимальная амплитуда, MA, мм	67,2±5,2	57,9±5,2	56,4±4,5	52,3±4,8

В тесте «открытое поле» на протяженности всего эксперимента Глирутин не оказывал существенного влияния на вегетативные реакции организма животных и исследовательскую активность (количество «норок», количество «болюсов», количество умываний), но на 30 день эксперимента наблюдается седативный эффект, что выражается в сокращении количества пересечений (горизонтальная активность) и количество стоек (вертикальная активность).

При оценке специфической токсичности препарата Глирутин было показано, что препарат в 0,5% и 5,0 % концентрациях при однократном нанесении не вызывает покраснения, отека или других видимых изменений кожи.

При определении мутагенной активности Глирутина по тесту на хромосомные aberrации в клетках костного мозга мышей *in vivo* показало отсутствие значимых различий в опытных группах по сравнению с контрольными мышами.

Изучение эмбриотоксических, тератогенных свойств Глирутина, а также влияния на репродуктивную функцию у крыс показало отсутствие отрицательного воздействия на исследуемые процессы.

В Заключении обобщаются полученные результаты с обсуждением. В итоге, результаты наших исследований показали, что биологическая активность комплексов зависит от выбранного носителя и соотношения компонентов, и в данном случае сама ГК оказалась более эффективным доставщиком рутина, чем ее моноаммониевая соль. В тоже время низкодозовый комплекс ГК/Р проявил бóльшую капилляропротекторную, антиоксидантную, противовоспалительную, гипогликемическую активность, чем сам рутин, что связано непосредственно со свойствами комплексов ГК

увеличивать растворимость рутина, способствовать его проникновению через мембрану, а также с синергическим действием двух препаратов. Все это, а также наличие «капсулы» из ГК, защищающей от быстрого метаболизма действующего препарата, позволяет снизить эффективную терапевтическую дозу рабочего препарата в несколько раз. Проведенные доклинические исследования препарата на безопасность показали перспективность использования препарата Глирутин в медицинской практике.

ВЫВОДЫ

1. Оптимальное молярное соотношение компонентов в супрамолекулярных комплексах рутина с глицирризиновой кислотой и моноаммониевой солью глицирризиновой кислоты по капилляропротекторным свойствам *in vivo* определено как 4:1.

2. По биохимическим параметрам на различных экспериментальных моделях *in vivo* как оптимальный носитель для рутина выбрана глицирризиновая кислота: комплекс рутина с глицирризиновой кислотой оказался в 1,4 раза эффективнее комплекса рутина с моноаммониевой солью глицирризиновой кислоты по содержанию малонового диальдегида - $2,185 \pm 0,164$ против $3,113 \pm 0,129$ нмоль/мг ($p < 0,0001$), активности каталазы - $67,29 \pm 2,07$ против $61,9 \pm 0,72$ мКат/л ($p < 0,05$), уровням общего холестерина - $1,58 \pm 0,04$ против $1,73 \pm 0,01$ ммоль/л ($p < 0,005$) и липопротеинов низкой плотности - $0,98 \pm 0,02$ против $1,15 \pm 0,04$ ммоль/л ($p < 0,01$).

3. На экспериментальных моделях воспаления *in vivo* отобранный комплекс (новая растворимая форма рутина - Глирутин) приводит к значимому снижению продуктов перекисного окисления липидов относительно контроля: малонового диальдегида - с $20,9 \pm 0,8$ до $13,77 \pm 2,09$ нмоль/л ($p < 0,01$), диеновых конъюгатов - с $2,5 \pm 0,3$ до $1,63 \pm 0,13$ ЕД/мл ($p < 0,05$), сопряженных триенов - с $0,7 \pm 0,1$ до $0,45 \pm 0,04$ ЕД/мл ($p < 0,05$); и активации ферментов антиокислительной системы: супероксиддисмутазы - с $10,9 \pm 0,3$ до $13,19 \pm 0,95$ ЕД/мл ($p < 0,05$) и каталазы - с $4,7 \pm 0,4$ до $7,06 \pm 0,58$ мКат/л ($p < 0,01$); проявляет высокие антиэкссудативные и антипролиферативные свойства.

4. Терапевтическая доза рутина на экспериментальной модели воспаления составила 100 мг/кг, для Глирутина - 5 мг/кг, а терапевтический индекс Глирутина выше терапевтического индекса рутина в 20 раз.

5. При комплексообразовании происходит повышение прямых антиоксидантных (антирадикальных) свойств рутина *in vitro* ($p < 0,05$).

6. Глирутин относится к VI классу относительно безвредных веществ, не обладает кумулятивным, местно-раздражающим, мутагенным, эмбриотоксическим, тератогенным действием, не оказывает отрицательного влияния на репродуктивную функцию животных.

7. Глирутин показал отсутствие хронического токсического влияния на клеточный состав периферического крови, функцию печени

(уровни общего белка, глюкозы, мочевины, активность ферментов АЛТ, АСТ в крови не отличались от контроля) и почек (отсутствие белка, глюкозы, кетонов, уробилина, билирубина в моче), вегетативную нервную систему. Выявлено антикоагулянтное действие при 30 дневном введении ($p < 0,05$).

**SCIENTIFIC COUNCIL FOR AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc03/30.12.2019.B.01.13 AT THE INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND
BIOCHEMISTRY OF THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**

INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY

BARATOV KUZIJON RABBIM UGLI

**THE STUDY OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY AND
PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF RUTIN SOLUBLE FORM**

03.00.01 – Biochemistry

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

Tashkent – 2021

The title of the dissertation of PhD has been registered with number B2019.2.PhD/B290 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Institute of Biophysics and Biochemistry at the National University of Uzbekistan.

The abstract of the dissertation in three (Uzbek, Russian and English (Resume)) languages has been placed 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:

Tagayalieva Nigora Abdunabievna
doctor of philosophy, professor

Official opponents:

Yuldashev Nasirdjan Muxamedjanovich
doctor of biological sciences, professor

Abdullaeva Muborak Maxmusovna
doctor of biological sciences, professor

Leading organization:

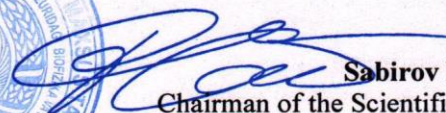
Andijan state university


The dissertation will be defended on 12 January 2022 year 14⁰⁰ 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 № 31). Address: 100174, Tashkent city, Olmazor district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru.

The abstract of the dissertation has been distributed on « 29 » December 2021.
(Protocol at the register № 1 dated « 29 » December 2021).




Sabirov Ravshan Zairovich
Chairman of the Scientific Council Awarding
Scientific Degrees, D.B.Sc., academician


Pozilov Mamurjon Komiljonovich
Scientific secretary the Scientific Council Awarding
Scientific Degrees, D.B.Sc., professor


Kadirova Dilbar Abdullaevna
Chairman of the academic seminar under the
Scientific Council Awarding Scientific Degrees, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (PhD thesis abstract)

The aim of the research work is to select the most effective preparation among the complexes of rutin with triterpene glycosides based on their biological activity in various *in vivo* and *in vitro* models.

The object of the research work is rutin, glycyrrhizic acid, monoammonium salt of glycyrrhizic acid, rutin complexes with glycyrrhizic acid and with monoammonium salt of glycyrrhizic acid in various ratios, Glyrutin preparation, laboratory animals.

The scientific novelty of the research is as follows:

the optimal ratio of triterpene glycosides and rutin in the supramolecular complex is a molar ratio of 4:1; and the optimal carrier is glycyrrhizic acid; the GA/R complex in a molar ratio of 4: 1 was named Glyrutin;

a significant increase in capillary-protective, antioxidant, anti-inflammatory and hypolipidemic *in vivo* activity, as well as antiradical activity *in vitro* of rutin in Glyrutin has been proven;

a 20-fold decrease in the therapeutic index of rutin (100 mg/kg) compared with Glyrutin (5 mg/kg) was established at rats;

the safety of the preparation Glyrutin on the animal organism was shown during preclinical trials in terms of acute toxicity, cumulativeness and chronic toxicity; locally irritating, mutagenic, embryotoxic, teratogenic and reproductive effects.

Implementation of research results. Based on the results obtained on the study of the biological activity of rutin, GK, its monoammonium salt, as well as their complexes:

The results of studies on the antioxidant activity of supramolecular complexes of rutin with GK and its monoammonium salt in various molar ratios were used to determine the antioxidant, hypoglycemic, antiradical properties of polyphenols, tannins, flavonoids and their derivatives in the project FA-A10-T053 stress in diabetes mellitus using natural compounds from local raw materials "(Reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan №4 / 1255-1615 dated June 2, 2021). As a result, this made it possible to choose among the drugs compounds with high antioxidant properties;

Based on the results of the *in vivo* presence of capillary-protective and antioxidant properties of GK and its monoammonium salt, the necessity of obtaining new derivatives of GK was shown and, based on this, in the implementation of the applied project FPFIT.2-18 "Biological activity of new derivatives of some natural triterpenic acids containing residues of 2-alkyl (aryl) -5-amino-1,3,4-thiadiazole "14 new GK derivatives were synthesized (Reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan №4 / 1255-1614 dated June 2, 2021). As a result, this made it possible to select among the derivatives of the most active anti-inflammatory, hypoxic and immunotropic properties to obtain a new promising drug.

The structure and volume of the thesis. The dissertation consists of an introduction, four chapters, summary, conclusions, and a list of references. The volume of the dissertation is 115 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; Part I)

1. Vypova N.L., Gafurov M.B., Yakubova R.A., Inagamov O.K., Abrekova N. N., Esonov R.S., Baratov K.R., Rakhmanova G.G. Comparative analyses of biological aktiviti of some drugs and their soluble complexes // Узбекский биологический журнал, 2017. - №.6. –С. 23-26. (03.00.00. №5)

2. Баратов К.Р., Махмудов Л.У., Матчанов У.Д., Тагайалиева Н.А. Сравнительная биологическая активность супрамолекулярных комплексов рутина // Universum: химия и биология. - 2020.- № 8 (74). - С.15-18. (02.00.00. №1)

3. Баратов К.Р., Рахмонова Г.Г., Махмудов Л.У. , Кузиев Ш.Н., Матчанов У.Д. Выпова Н.Л., Якубова Р.А., Тагайалиева Н.А. Оценка противовоспалительного и антиоксидантного действия супрамолекулярного комплекса рутина // Universum: химия и биология. - 2020.- № 9 (75). – С.8-14. (02.00.00. №1)

4. Баратов К.Р., Выпова Н.Л., Якубова Р.А. Матчанов А.Д., Тагайалиева Н.А. Изучение острой токсичности и кумулятивных свойств новой растворимой формы рутина // Журнал Инфекция, иммунитет и фармакология- Ташкент, 2020.- №4 – С. 33-39. (03.00.00. №7)

5. Baratov Q., Mustafakulov M., Matchanov A., Vypova N., Yakubova R., Tagayalieva N. Glycyrrhizic acid and its derivatives as the carriers for the poorly soluble flavonoids // International Journal of Disaster Recovery and Business Continuity. – 2021. - №2 – P. 1-8. (Web of Science)

6. Баратов К.Р., Махмудов Л.У., Якубова Р.А., Выпова Н.Л., Абдугафурова Д.Г., Назирова Э.Р., Тагайалиева Н.А. Противовоспалительная активность комплекса рутина с глицирризиновой кислотой // Экспериментальная и клиническая фармакология - 2021.- № 9. – С.29-33. (Scopus Cite Score 0.4)

II бўлим (II часть; Part II)

7. Баратов К.Р., Рахмонова Г.Г., Выпова Н.Л., Якубова Р.А., Матжанов А.Д., Тагайалиева Н.А. Доклиническое изучение общей токсикологии лекарственной растворимой формы рутина // Научно-практическая конференция «Вклад Абу Али Ибн Сины в развитие фармации и актуальные проблемы современной фармацевтики». – Ташкент, 11 мая, 2018 г. – С.153-154.

8. Баратов К.Р., Рахмонова Г.Г., Выпова Н.Л., Якубова Р.А., Матчанов А.Д., Тагайалиева Н.А. Изучение кумулятивной активности новой растворимой формы рутина методом субхронической токсичности // Сборник

тезисов Научной Конференции Молодых Ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений». – Ташкент, 18-19 марта 2019 – С.105.

9. Баратов К.Р., Рахмонова Г.Г., Выпова Н.Л., Якубова Р.А., Матчанов А.Д., Тагайалиева Н.А. Изучение местно-раздражающего действия новой растворимой формы рутина методом конъюнктивальной пробы // Сборник тезисов Научной Конференции Молодых Ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений». – Ташкент, 18-19 марта 2019. – С.106.

10. Баратов К.Р., Матчанов О.Д., Выпова Н.Л., Рахмонова Г.Г., Эсонов Р.Р., Элмуродов Л.К., Якубова Р.А., Тагайалиева Н.А. Изучение влияния растворимой формы рутина на клеточный иммунный ответ // Сборник тезисов I научно-практической конференции молодых учёных «Достижения и перспективы биофизики и биохимии» 17 сентября 2019 года. Ташкент. – С. 20-22.

11. Баратов К.Р., Матчанов У.Д., Выпова Н.Л., Рахмонова Г.Г., Жураев Ш. Ш., Махмудов Л. У., Тагайалиева Н.А. Изучение влияния растворимой формы рутина на неспецифическую резистентность мышей // Сборник тезисов Научно-практической конференции с международным участием «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы». - Ташкент, 15-16 ноября 2019. – С.391-392.

12. Баратов К.Р., Выпова Н.Л., Рахмонова Г.Г., Матчанов О.Д., Элмуродов Л.К., Якубова Р.А., Тагайалиева Н.А. Противовоспалительная активность новой растворимой формы рутина // Сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума «Наука и инновации-современные концепции» (г. Москва, 12 марта 2020 г.). / отв. ред. Д.Р. Хисматуллин. – Москва: Издательство Инфинити, 2020. – С.72-75.

13. Баратов К.Р. Выпова Н.Л., Рахмонова Г.Г., Матчанов О.Д., Элмуродов Л.К., Якубова Р.А., Тагайалиева Н.А. Эффективность новой растворимой формы рутина при экссудативном воспалении // Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии 2020». – Ташкент, 22 мая 2020. – С.55-56.

14. Баратов К.Р., Выпова Н.Л., Матчанов О.Д., Махмудов Л.Н., Рахмонова Г.Г., Эльмуродов Л.К., Тагайалиева Н.А. Изменение биологических свойств при повышении биодоступности флавоноидов// Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии 2020». – Ташкент, 22 мая 2020. – С.56-57.

15. Quzijon R.U. Baratov, Gulnora G. Rakhmonova, Lazizbek Um. Makhmudov, Natalia L. Vypova, Rana Ab. Yakubova, Nigora Ab. Tagayalieva Lipid lowering activity of rutin and its complexes with glycyrrhizic acid and its derivatives //Proceedings of the 2nd International Scientific and Practical Conference «Scientific Community: Interdisciplinary Research» Hamburg, Germany, 26-28.01.2021. – P. 474-476.

16. Баратов К.Р., Махмудов Л.У., Рахмонова Г.Г., Матчанов А.Д., Выпова Н.Л., Якубова Р.А., Тагайалиева Н.А. Комплексы глицирризиновой кислоты для повышения биодоступности малорастворимых флавоноидов //

Материалы V Международной дистанционной научно-практической конференции «Лекарства - человеку. Современные проблемы фармакотерапии и назначения лекарственных средств» (Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів») 11-12 марта 2021, Харьков, Украина. – С.217-219.

17. Баратов К.Р., Махмудов Л.У., Рахмонова Г.Г., Матчанов О.Д., Выпова Н.Л., Якубова Р.А., Назирова Э.Р., Тагайалиева Н.А. Расчет терапевтического индекса рутина и его комплексного препарата Биорутин //Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии - 2021», 21 мая 2021, Ташкент. – С.46.

18. Баратов К.Р., Махмудов Л.У., Рахмонова Г.Г., Матчанов О.Д., Выпова Н.Л., Якубова Р.А., Абдугафурова Д.Г., Тагайалиева Н.А. Влияние комплексообразования на эффективные дозы малорастворимых препаратов//Материалы конференции «Проблемы Биофизики и Биохимии – 2021», 21 мая 2021, Ташкент. – С. 44-45.

Автореферат «Инфекция, иммунитет ва фармакология» журналі
таҳририятида таҳрирдан ўтказилди (15.11.2021 й.)