АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе «8D05101 – Биология»

Амангельдинова Мадина Ерболкызы

Изучение фармакологических свойств нового полифенольного комплекса на основе *Rheum cordatum* Losinsk.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена изучению фармакологических свойств нового полифенольного комплекса на основе *Rheum cordatum* Losinsk.

Актуальность темы исследования.

Жировая болезнь печени, связанная с нарушением метаболизма, в настоящее время рассматривается как одно из наиболее распространенных хронических заболеваний печени, тесно связанное с пандемией ожирения и метаболического синдрома. Согласно данным проекта Global Burden of Disease (GBD 2021), с 1990 по 2021 год число пациентов с метаболически ассоциированной жировой болезнью печени (МАЖБП) увеличилось с 564,4 млн до 1,3 млрд человек, а ее распространенность среди мирового населения возросла с 10,6% до 16,1%. Стремительный рост заболеваемости обусловлен распространённостью алиментарного ожирения, сахарного диабета и метаболического синдрома, что делает неалькогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) одной из ключевых медико-социальных проблем современности. Несмотря на усилия мировой науки, фармакотерапия НАЖБП остаётся ограниченной. В 2024–2025 гг. одобрение получили первые препараты – резметиром (агонист THR-β) и семаглутид (агонист GLP-1), показавшие эффективность у пациентов с фиброзом печени и гепатостеатозо. Однако эти препараты характеризуются высокой стоимостью, необходимостью длительного мониторинга безопасности и узконаправленным механизмом действия. Ранее применявшиеся средства, в том числе, витамин Е, пиоглитазон, рекомендованы лишь ограниченным категориям пациентов, а урсодезоксихолевая кислота не показала эффективности при НАЖБП. Таким образом, сохраняется потребность в поиске новых фармакологических агентов, обладающих разнонаправленным механизмом действия и низкой фармакотоксичностью.

Особый интерес вызывают полифенольные комплексы полученные из растения рода *Rheum* L. обладающие антиоксидантными, противовоспалительными и антимикробными свойствами. Данные фармакологические свойства особенно важны для НАЖБП, где ключевую роль играют оксидативный стресс, липотоксичность, воспаление и нарушение состава кишечной микробиоты. Род *Rheum* (Polygonaceae) насчитывает более 60 видов и широко применялся в традиционной медицине Китая, Индии и Центральной Азии. Наиболее изучены *R. palmatum*, *R. officinale*, *R. tanguticum*, богатые антраценпроизводными, флавоноидами и фенольными кислотами. Однако *Rheum cordatum* Losinsk., произрастающий в Казахстане, остаётся малоизученным, несмотря на высокое потенциальное присутствия ценных биологически активных соединений.

Несмотря на отдельные работы, посвящённые изучению *R. cordatum*, до настоящего времени отсутствовали исследования, включающие: сравнительный фитохимический анализ экстрактов, полученных зелеными методами; оценку антиоксидантной и антимикробной активности *in vitro*; исследование гепатопротекторных свойств *in vivo* на модели гепатостеатоза.

Не менее важен и экологический аспект фармацевтического производства. Одним из ключевых принципов зелёной химии является предотвращение или минимизация негативного воздействия на окружающую среду, включая рациональное использование и утилизацию органических растворителей. Традиционные методы экстракции (например, с применением гексана, ацетона, хлороформа) характеризуются повышенными экологическими и технологическими рисками, связанными с возможным загрязнением отходов и энергозатратностью процессов. Экстракция сверхкритическим диоксидом углерода ($ScCO_2$) позволяет получать высокочистые экстракты, минимизировать использование органических растворителей и снизить экологическую нагрузку, что соответствует современным требованиям устойчивого фармацевтического производства. Актуальность внедрения подобных технологий особенно велика в Казахстане, где развитие фармацевтической промышленности является стратегическим приоритетом. В соответствии с поручением Президента Республики Казахстан Касым-Жомарта Кемелевича Токаева от 1 сентября 2020 года, к 2025 году доля отечественного производства лекарственных средств должна достичь 50 %. Реализация этой задачи предполагает активное использование местного растительного сырья и внедрение инновационных технологий, что делает *Rheum cordatum* уникальным объектом для комплексного изучения и практического применения.

Цель исследования – изучение фармакологических свойств нового полифенольного комплекса на основе *Rheum cordatum* Losinsk.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительный фитохимический анализ экстрактов, полученных с применением сверхкритической экстракции диоксидом углерода ($ScCO_2$), субкритической этанольной экстракции (sbcEtOH) и ультразвуковой экстракции (UAE);
2. Оценить антиоксидантную активность экстрактов по результатам тестов DPPH, ABTS, CUPRAC и по общему содержанию фенольных соединений (TPC);
3. Изучить и сравнить антимикробные свойства экстрактов, полученных методами $ScCO_2$, sbcEtOH, UAE;
4. Определить острую и хроническую токсичность полифенольного комплекса на основе *Rheum cordatum* Losinsk.;
5. Оценить влияние перорального введения экстракта *Rheum cordatum* Losinsk. на лабораторных животных в условиях моделирования гепатостеатоза.

Объект исследования – Полифенольный комплекс из корней и листьев *Rheum cordatum* Losinsk., экстрагированный методами $ScCO_2$, sbcEtOH и UAE

Методы исследования. Во время проведения исследовательской работы по теме диссертаций были использованы следующие методы: фитохимические, антиоксидантные, антимикробные, фармакологические, биохимические, гистологические

Научная новизна и значимость диссертационной работы

Впервые проведено комплексное исследование экстрактов корней и листьев *Rheum cordatum* Losinsk., полученных с использованием зелёных технологий: $ScCO_2$, sbcEtOH и UAE.

Впервые осуществлён сравнительный фитохимический анализ экстрактов, выполненный методом UHPLC-MS/MS, с идентификацией ключевых фенольных соединений и флавоноидов, включая галловую, протокатеховую, кофейную, п-кумаровую, феруловую, эллаговую кислоты, катехин, эпикатехин, эпигаллокатехин-галлат, эпикатехин-галлат, рутин, изокверцитрин, гесперидин, кверцетин, кемпферол, апигенин, лютеолин и хризин.

Проведён сравнительный анализ антиоксидантной и антимикробной активности полученных экстрактов в зависимости от метода экстракции и содержания фенольных

соединений с использованием тестов DPPH, ABTS, CUPRAC, TPC, а также MIC, MBC и BIC_{90}.

Впервые оценена токсикологическая безопасность полифенольных экстрактов – впервые установлены показатели острой и хронической токсичности *in vivo* и доказана фармакологическая безопасность исследуемых образцов.

Впервые изучено гепатопротекторное действие $ScCO_2$-экстракта *Rheum cordatum* Losinsk. на модели диет-индуцированного гепатостеатоза у лабораторных животных.

Теоретическая значимость научно-исследовательской работы заключается в том, что полученные результаты демонстрируют новые научные данные о современных методах экстракции растительного сырья *Rheum cordatum* Losinsk. В данном исследовании показаны фармакологические свойства экстрактов на основе казахстанского вида *Rheum cordatum* Losinsk. Впервые выявлена взаимосвязь между количественным содержанием полифенольных комплексов и антиоксидантной и антимикробной активностью. В условиях экспериментального гепатостеатоза на лабораторных животных при пероральном введении $ScCO_2$-экстракта *Rheum cordatum* Losinsk. в течение 35 дней показано снижение уровня печёночных ферментов, нормализация концентрации холестерина и триглицеридов в сыворотке крови, а также уменьшение выраженности жировой инфильтрации в гепатоцитах по данным гистоструктурного анализа.

Данная работа формирует основу для дальнейшего развития теоретических подходов к применению современных экстракционных технологий в фармакологии, фармакогнозии и биотехнологии. Токсикофармакологические исследования эффективности и безопасности экстрактов *Rheum cordatum* будут способствовать проведению дальнейших исследовании по высокоселективному извлечению биологически активных веществ, обеспечивая возможность комплексной переработки лекарственного растительного сырья Казахстана. Это создаёт предпосылки для расширения спектра отечественных фармацевтических препаратов и повышения конкурентоспособности фармацевтической отрасли Республики Казахстан на международном уровне.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Экстракт *Rheum cordatum* Losinsk. полученный методом UAE-EtOH-1h, UAE-EtOH-4h, sbcEtOH-E: 140°C-60bar, sbcEtOH-E: 140°C - 80bar, ScCO2 :100bar-60°C, $ScCO_2$: 150bar-60°C содержит в корнях 30 соединений и в листьях 28 фенольных соединений с доминированием галловой кислоты, катехинов и флавоноидных гликозидов (рутин, гесперидин).
2. Экстракт из листьев Rheum cordatum Losinsk., полученный в условиях ScCO2-150, характеризуется высокой антиоксидантной активностью, что подтверждается минимальным значением IC_{50} по DPPH (0,0132 мг/мл) и максимальным содержанием общих фенольных соединений по TPC = 140 мг GAE/г ($p < 0,05$).
3. Экстракт на основе листьев Rheum cordatum Losinsk. полученный методом $ScCO_2$-150 обладает антимикробной активностью по данным: MIC = 125–250 мкг/мл против *S. aureus*, *E. faecalis*, *B. spizizenii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*.
4. Фармакотоксическое действие полифенольного комплекса из листьев полученный методом $ScCO_2$-150 не выявлена на основе**:** отсутствия токсических эффектов при дозах до 50 мг/кг, в результате теста открытое поле, по массе органов, и по всем биохимическим показателям ($p > 0,05$).
5. Пероральное введение экстракта на основе *Rheum cordatum* Losinsk. полученный методом $ScCO_2$-150 в дозе 50 мг/кг в течение 28 и 35 дней способствовал нормализации биохимических показателей крови и снижению выраженности жировой инфильтрации печени.

Практическая значимость исследования заключается в обосновании возможности использования *Rheum cordatum* Losinsk. как перспективного источника природных антиоксидантов и гепатопротекторов, получаемых экологически чистыми методами, что соответствует приоритетам развития фармацевтической промышленности в Казахстане.

Личный вклад докторанта в подготовке каждой публикации заключался сборе данных о предмете исследований, сборе растений, выполнении лабораторных исследований на растениях и животных объектах, включая анализ, интерпретацию и оформление полученных результатов, подготовке рукописей публикаций.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа выполнена в рамках плановых исследований по государственным научно-техническим проектам: «Разработка инновационных способов повышения продуктивности сельскохозяйственных животных с использованием физиолого-генетических подходов» (ИРН BR24993004, годы реализации 2024–2026 гг.), научный руководитель проекта - к.б.н., асс. профессор Мусаева А.С.; «Разработка программы сохранения и развития ресурсной базы перспективных для медицины и ветеринарии растений Казахстана в условиях изменяющегося климата» (ИРН BR21882180, договор № 417-ПЦФ-23-25 от 15.11.2023 г.), научный руководитель проекта - к.б.н., профессор Терлецкая Н.В.

Рассмотрение и утверждение результатов работы. Основные результаты диссертации ежегодно заслушивались на научно-техническом совете факультета «Биологии и биотехнологии», на заседаниях кафедры «Биоразнообразия и биоресурсов», кафедры «Зоологии, гистологии и цитологии» КазНУ им. аль-Фараби, а также на Ученом Совете РГП на ПХВ «Институт генетики и физиологии» КН МНВО РК.

Результаты исследования:

1. Сравнительный фитохимический анализ экстрактов корней и листьев *Rheum cordatum*, полученных методами $ScCO_2$, sbcEtOH и UAE и исследованных методом LC–MS/MS, показал наличие 30 соединений в корнях, тогда как в листьях обнаружено 28 соединений, относящихся к различным классам вторичных метаболитов. Установлено, что корни характеризуются более высоким содержанием катехинов и их галлатов (эпикатехин галлат до 83,53 мкг/мг), тогда как листья отличаются повышенным содержанием флавоноидных гликозидов и фенольных кислот, включая рутин (до 21 932 мкг/мг) и гесперидин (до 14 975 мкг/мг);

2. Исследования *in vitro* (DPPH, ABTS, CUPRAC, TPC) показали высокую антиоксидантную активность всех экстрактов ($p < 0,05$), особенно $ScCO_2$-150 (листья): IC_{50} (DPPH) = 0,0132 мг/мл, ABTS = 0,0462 мг/мл, TPC = 140 мг GAE/г; для sbcEtOH-60 (DPPH = 0,0379 мг/мл, ABTS = 0,0521 мг/мл, TPC = 125 мг GAE/г); для UAE-M-4h (DPPH = 0,0472 мг/мл, ABTS = 0,0612 мг/мл, TPC = 100 мг GAE/г);

3. Антимикробная активность экстрактов из корней *Rheum cordatum* Losinsk. подтверждена в отношении в отношении Enterococcus faecalis, полученный методом сверхкритической CO_2-экстракции ($ScCO_2$ 100-60), для которого минимальное значение MIC составило 31,25 мкг/мл, что сопоставимо с активностью стандартных природных антимикробных агентов. Наилучшие результаты среди листовых образцов показал экстракт $ScCO_2$-150, для которого значения MIC составляли 125–250 мкг/мл в отношении *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Bacillus spizizenii*;

4. Результаты исследований острой и хронической токсичности свидетельствуют, что сверхкритический CO_2-экстракт *Rheum cordatum* при пероральном введении в дозах до 50 мг/кг не оказывает токсического влияния на организм животных: показатели функции печени и почек, липидного обмена и относительная масса органов оставались в пределах физиологической нормы;

5. На модели гепатостеатоза полифенольный комплекс *Rheum cordatum* проявил выраженное гепатопротекторное действие, что подтверждается нормализацией активности печёночных ферментов (АЛТ, АСТ, ГГТ, ЩФ), снижением уровней триглицеридов и холестерина ($p < 0,05$), а также регрессией жировой инфильтрации печени, подтверждённой гистологически.

Публикации и апробация работы. Основное содержание диссертации опубликовано в 6 печатных работах, из них 3 статьи, в международных рецензируемых журналах с импакт-фактором (Q1), индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, и 3 тезиса в материалах международных и республиканских конференций.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 116 страницах печатного текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, список использованной литературы и приложения. Работа иллюстрирована 20 таблицами и 14 рисунками. Список литературы включает 184 источника.