

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019.К/В.37.01 РАҚАМЛИ  
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**ГАЙИБОВА САБИНА НАРИМАНОВНА**

**ЦИНАРОЗИДНИНГ ЦИКЛОДЕКСТРИНЛАР БИЛАН СУВДА  
ЭРИЙДИГАН КОМПЛЕКСЛАРНИНГ ТУЗИЛИШИ ВА БИОЛОГИК  
ФАОЛЛИГИНИ ЎРГАНИШ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент – 2021**

УДК 615.322: 544.016.4: 577.352.42

**Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси  
автореферати мундарижаси**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)  
по биологическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)  
on biological sciences**

**Гайибова Сабина Наримановна**

Цинарозиднинг циклодекстринлар билан сувда эрийдиган комплексларнинг  
тузилиши ва биологик фаоллигини ўрганиш.....3

**Гайибова Сабина Наримановна**

Изучение структуры и биологической активности водорастворимых  
комплексов цинарозида с циклодекстринами .....21

**Gayibova Sabina Narimanovna**

Study of the structure and biological activity of water-soluble complexes of  
cynaroside with cyclodextrins.....40

**Эълон қилинган ишлар рўйхати**

Список опубликованных работ

List of published works.....17

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ  
ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ DSc.02/30.12.2019.К/В/37.01 РАҚАМЛИ  
ИЛМИЙ КЕНГАШ**

---

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ**

**ГАЙИБОВА САБИНА НАРИМАНОВНА**

**ЦИНАРОЗИДНИНГ ЦИКЛОДЕКСТРИНЛАР БИЛАН СУВДА  
ЭРИЙДИГАН КОМПЛЕКСЛАРНИНГ ТУЗИЛИШИ ВА БИОЛОГИК  
ФАОЛЛИГИНИ ЎРГАНИШ**

**02.00.10 – Биоорганик кимё**

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

**Тошкент – 2021**

**Биология фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2020.2.PhD/В473 рақам билан рўйхатга олинган.**

Диссертация Биоорганик кимё институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифасида ([www.biochem.uz](http://www.biochem.uz)) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим тармоғида ([www.ziyounet.uz](http://www.ziyounet.uz)) жойлаштирилган.

**Илмий раҳбар:**

**Арипов Тахир Фатихович**

биология фанлар доктори, академик

**Расмий оппонентлар:**

**Ощепкова Юлия Игоревна**

кимё фанлар доктори, кат.и.х.

**Тагайалиева Нигора Абдунабиевна**

биология фанлар номзоди, кат.и.х.

**Етакчи ташкилот:**

**Микробиология институти**

Диссертация ҳимояси Биоорганик кимё институти ҳузуридаги DSc.02/30.12.2019. К/В.37.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ соат \_\_\_ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.:71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63.

Диссертация билан Биоорганик кимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (\_\_\_\_\_ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83.Тел.: 71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: [shsha@mail.ru](mailto:shsha@mail.ru)).

Диссертация автореферати 2021 йил «\_\_\_» \_\_\_\_\_ да тарқатилди.

(2021 йил \_\_\_\_\_ даги \_\_\_\_\_ рақамли реестр баённомаси.)

**Ш.И. Салихов**

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

**Ш.А. Шомуротов**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
илмий котиби, к.ф.д.

**М.Б. Гафуров**

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш  
кошидаги илмий семинар раиси, к.ф.д.

## **КИРИШ (Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)**

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунёда бугунги кунда турли касалликларда фармацевтик таъсирнинг истикболли стратегияларидан бири табиий манбаалардан олинган моддалар асосида олинган дори воситалардан фойдаланиш ҳисобланади. Бу ўринда ўсимликлардан ажратиб олинувчи флавоноидлар одам ва хайвонлар хужайраларининг биологик фаоллигига кенг қамровли таъсир қилувчи моддалар сифатида алоҳида аҳамиятга эга. Дори воситалари сифатида флавоноидларнинг фармакологик фаоллиги самарали бўлишига қарамасдан ксенобиотиклар билан солиштирилганда организм билан кам даражадаги биомосликка эга. Шунинг учун флавоноидлар асосидаги дори воситаларининг биомослигини ошириш ва терапевтик салоҳиятини яхшилаш учун турли технологик усуллардан фойдаланилаш муҳим аҳамиятга эгадир.

Бугунги кунда жаҳонда янги дори воситаларини яратиш ва яратилган дориларни такомиллаштириш, биомослигини оширувчи ва доза миқдорини камайтириш имкониятини берувчи, таъсир этадиган моддаларни инсон организмига етказиб бериш тизими билан боғлиқ илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бу борада молекуляр комплексларини олиш орқали яхшилланган фармакологик хусусиятларга эга макромолекуляр терапевтик системалар яратиш, ЦД асосида бошқариладиган молекуляр параметр ва физик-кимёвий хусусиятли полимер ташувчилар олиш, дори воситаларини ЦД билан иммобилизация қилиш усулларини ишлаб чиқиш, макромолекуляр дори системаларининг таъсир механизмларини аниқлаш ва уларни ишлаб чиқаришнинг саноат технологияларини яратиш зарур.

Бугунги кунда республикамизда маҳаллий доривор ўсимликлар асосида импорт ўрнини босувчи дори воситаларини яратиш, аҳолини сифатли дори-дармон билан таъминлаш борасида кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилмоқда. Хусусан, флавоноидлар асосида олинган гипоазотемик ҳамда антиоксидант хусусиятга эга бўлган препаратларни биологик фаоллиги ўрганиш ва уларни ЦДлар билан комплексларини олиб, биомослигини ошириш муҳим аҳамият касб этмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг 4-йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларини арзон, сифатли дори воситалари билан таъминланишини яхшилаш»<sup>1</sup> юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу ўринда маҳаллий хом ашёлар асосида жаҳон бозорида рақобатлаша оладиган, юқори самарадорликка эга ва арзон дори воситаларини яратиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил, 7 ноябрдаги ПФ-5229-сон «Фармацевтика

---

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги фармони

тармоғини бошқариш тизимини тубдан такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-2640-сон «Фармацевтика тармоғини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисида»ги Қарори ҳамда ушбу соҳа бўйича қабул қилинган бошқа меъерий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация ишида олиб борилган тадқиқотлар муайян даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги.** Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишларига мувофиқ бажарилган.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Дунёда кўплаб илмий марказларда флавоноидларни дори воситалари сифатида қўлланилиши бўйича илмий тадқиқотлар олиб борилмоқда. Жумладан, Wu ҳамда унинг ҳаммуаллифлари цинарозид *in vitro* шароитида кислороднинг фаол шакилларини олдини олиш ҳамда митохондрияларда каспазани фаоллашишини ингибирлаши ва TNF-ўлим рецепторларига таъсир қилиш орқали Н9С2 кардиобластома хужайра линияларини H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцирланган апоптоздан ҳимоя қилганини кўрсатиб беришган. Rump ва бош. томонидан изоляция қилинган каламуш юрагида цинарозидни антиишемик хусусиятини аниқланган. Бундан ташқари, *in vitro* тажрибаларда цинарозид томонидан эркин радикалларни ингибирланиши, қуйи зичликка эга липопротеинларни оксидланишининг секинлашиши ҳамда холестерин ва триглицеридларни кондаги миқдори камайиши кўрсатиб берилган.

Бугунги кунда полифеноллар ва уларнинг циклодекстринлар билан комплекслари кенг қўламда ўрганилмоқда. Проф. Усачева ва бош. томонидан рутинни β-ЦД иштирокида эрувчанлиги сезиларли даражада ортгани кўрсатиб берилган ва макроцикл концентрацияси ортиши билан рутинни эрувчанлиги чизикли равишда ортиши аниқланган. Бундан ташқари, проф. А.Г. Вейко ва бош. (2018) кверцетин-гидроксипропил-β-циклодекстрин комплексини олишган. Мазкур комплекс индивидуал моддага нисбатан глутатионни оксидланиши ва мембрана липидларининг перекисли оксидланишини самаралироқ ингибирлаши кўрсатиб берилган.

Республикамик миқёсида Ўсимлик моддалар кимёси институти ходимлари томонидан *Ferula varia* ўсимлигидан ажратиб олинган цинарозид гипоазотемик хусусият бўйича леспефрил дори воситаси билан таққосланганда бир ҳил таъсирга эга эканлиги кўрсатилган. Проф. Сыров В.Н. ва бош. томонидан цинарозиднинг янги 0,05 г таблетка кўринишидаги шаклини ишлаб чиқариш технологияси яратилган.

Бироқ, кўпдаб тадқиқотлар амалга оширилган бўлишига қарамасдан цинарозидни циклодекстринлар билан комплекслари олинмаган ва тадқиқ этилмаган. Бундай тадқиқотлар цинарозидни терапияда кенг қўлланилиши учун асос бўлиб хизмат қилиши мумкин.

**Тадқиқотнинг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.**

Диссертация тадқиқоти Биоорганик кимё институтининг илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА-АЁО-11 «Лютеолин ва унинг хосиласи цинарозидни циклодекстринлар билан сувда эрийдиган комплексларини олишни оптимал усулини яратиш ва уларни биологик фаолликларини ўрганиш» (2017-2018 й.й.) мавзудаги лойиҳаси доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади** циклодекстринлар тури ҳамда комплексларини олиш усулларини цинарозиднинг биологик фаоллиги ва олинган комплексларнинг тузилишига солиштирма таъсирини аниқлашдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

назарий ҳисоб-китоблар ёрдамида цинарозидни биомослигини ошириш учун  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД лардан ёрдамчи моддалар сифатида фойдаланиш эҳтимолини аниқлаш;

фазали эрувчанлик профили усули ёрдамида  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД дан фойдаланиш самарадорлигини баҳолаш;

бўғлатиш ва лиофил қуритиш усуллари ёрдамида цинарозидни  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД билан комплексларини олиш;

ТГ-ДСК, кукунли рентген дифрактометрия, УБ-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия каби физик-кимёвий усуллар ёрдамида ҳосил бўлган комплексларни тасдиқлаш;

*in vitro* шароитида каламуш аорта препаратида цинарозид ва унинг ЦД билан супромолекуляр комплексларини вазорелаксанти эффектини аниқлаш;

*in vitro* шароитида цинарозид ва унинг ЦД-комплексларини каламуш жигар митохондрияларида оксидланишли стресс чақириб, мембрана липидларининг перекисли оксидланиши ва эркин радикалларга нисбатан таъсирини аниқлаш.

**Тадқиқотнинг объекти** сифатида цинарозид,  $\gamma$ -циклодекстрин ( $\gamma$ -ЦД), 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин (2-ГП- $\beta$ -ЦД), комплексы цинарозид/ $\gamma$ -ЦД ва цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (бўғлатиш ва лиофил қуритиш усуллари билан олинган, ҳамда физик аралашма), каламуш аорта препарати, каламуш жигар митохондрияси, митоK<sub>ATP</sub>-канал, липидларни перекисли оксидланиши хусусиятлари олинган.

**Тадқиқотнинг предмети** цинарозидни  $\gamma$ -циклодекстрин ва 2-ГП- $\beta$ -циклодекстрин билан цинарозидни комплексларини олиш, цинарозид/ $\gamma$ -циклодекстрин ва цинарозид/2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин комплексларини олинишига физик-кимёвий хусусиятларни таъсирини ўрганиш (бўғлатиш ва лиофил қуритиш усуллари ҳамда физик аралашма), аорта препарати ва митохондрия функционал параметрларида комплексларни биомойиллиги, ўсимлик флавоноидларини липидларни перекисли оксидланишида мембрана фаоллиги, уларни каламуш жигар митохондрияларининг функционал хусусиятларига таъсири ҳамда антирадикал фаоллиги аниқлаш ҳисобланади.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқотда кукунли рентген дифрактометрия, дифференциал сканерловчи калориметрия ва термогравиметрик таҳлил, оптик микроскопия, УБ-спектроскопия, ЯМР-

спектроскопия, дифференциал центрифугалаш, фотометрия, спектрофотометрия каби замонавий биоорганик ва биофизик усуллардан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

$\gamma$ -ЦД иштирокида цинарозиднинг эрувчанлигидаги фазали профиль В-типга мос, 2-ГП- $\beta$ -ЦД иштирокида эса цинарозиднинг эрувчанлигидаги фазали профиль  $A_L$ -типга мослиги аниқланган;

$\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД иштирокида цинарозидни сувда эрувчанлиги ортиши ҳамда бўғлатиш, лиофиол қуритиш ва механик аралашма усуллари билан цинарозид/ $\gamma$ -циклодекстрин ва цинарозид/2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин комплекслари олинган ва тузилиши физик-кимёвий усуллар ёрдамида исботланган;

цинарозиднинг циклодекстрин билан комплекслар индивидуал цинарозидга нисбатан юқориқоқ релаксанти хусусиятни намоён қилиши аниқланган;

цинарозиднинг циклодекстрин билан комплекслар индивидуал компонентларга нисбатан юқориқоқ даражада жигар митоК<sub>АТФ</sub>-канални фаоллаштириши аниқланган;

цинарозиднинг циклодекстрин билан комплекслар индивидуал цинарозидга нисбатан ДФПГ барқарор радикали, NO радикали, Fe<sup>2+</sup>/аскорбат тизими билан чақирилган мембраналардаги липидларни перекисли оксидланишини кучлироқ ингибирлаши исботланган.

**Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагилардан иборат:

цинарозиднинг  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД билан комплексларини олиш оптимал усуллари аниқланган;

$\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД комплекслари сувли муҳитда цинарозидни эрувчанлиги ошириши аниқланган;

цинарозид  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД билан комплексларининг юқори антиоксидантлик ва релаксанти хусусиятларини намоён қилиши аниқланган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** олинган натижалар замонавий физик-кимёвий ва биофизик усуллардан фойдаланилгани, олинган натижаларнинг ишончлилиги даражаси натижаларнинг импакт-факторли рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши, таққосланган кўрсаткичлардаги фарқларни ишонччилигини статистик қайта ишлаш учун Стюдент коэффициенти, компьютерные дастурлари Origin 6.1 (OriginLab Corporation, АҚШ), Graph Pad Prism 8 (GraphPad Software, АҚШ) дан фойдаланилганлиги билан баҳоланади.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.**

Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти цинарозидни  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД билан олинган комплекслари, олинган комплексларни физик-кимёвий хусусиятлари, комплексларни релаксанти хусусиятини ўрганиш, митоК<sub>АТФ</sub>-канални модуляция қилиши орқали изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундаки, цинарозидни аниқланган фармакологик эффекти цинарозид учун специфик “нишон” вазифасини бажарувчи молекуляр факторларни тўғрисида илмий қарашларни

бойитади ва тадқиқотлар учун илмий асос бўлиб хизмат қилиб, уни клиник қўлланилишига хизмат қилади.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Цинарозидни циклодекстринлар билан комплекслар олиш ва уларнинг биологик фаоллигини скрининг қилиш натижалари бўйича:

цинарозид ва унинг комплекслари каламуш аорта препаратининг қисқариш фаоллигига таъсири ФА-Ф-6 «Юрак-қон томир хужайралари истиқболли нишонларини модуляция механизмларининг комплекс тавсифи» фундаментал лойиҳасида биологик актив моддаларнинг юрак-қон томир хужайраларига таъсирларини аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 10 декабрь 2020 йилдаги 4/1255-2770-сон маълумотномаси). Натижада циклодекстринлар билан олинган комплекслар юқори релаксат хусусиятни намоён қилиши имконини берган;

цинарозиднинг циклодекстринлар билан эрувчанлиги ошиши цинарозиднинг нейропротектив хусусиятларни яхшилаш усулларидан Барселона Автоном университетининг “Дори моддаларни етказиш учун полимер наноишувчилар” лойиҳасида циклотекстрин комплекслари асосида моддаларни етказиб берадиган нанотузилишларнинг мувофиқлигини аниқлашда фойдаланилган (Барселона Автоном университетининг (Испания) 2020 йил 19 ноябрдаги маълумотномаси). Натижада цинарозид/циклодекстрин комплексларининг биологик фаоллигини аниқлаш имконини берган.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Тадқиқот натижалари 3 та халқаро ва 2 республика илмий-амалий анжуманларда муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 7 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 3 та мақола, жумладан, 2 таси Республика ва 1 таси хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми.** Диссертация таркиби кириш, учта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 105 бетни ташкил этади.

## ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

**Кириш** қисмида олиб борилган илмий тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурияти, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари асослаб берилган, тадқиқотнинг объекти ва предмети тавсифланган, тадқиқотнинг Ўзбекистон республикаси фан ва технологиялар ривожланишининг устивор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш,

нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Цинарозидни қўллаш истиқболлари: муаммога замонавий қарашлар**» деб номланган биринчи бобида *in vitro* ва *in vivo* жонли равишда цинарозид биологик фаоллигини ўрганиш, флавоноидларнинг биомослиги даражасини оширишга замонавий ёндашувлар, уларнинг амалий қўлланилишини кенгайтиришга бағишланган замонавий адабиётлар таҳлил қилинган, шунингдек ноёб физик фазовий тузилиши "инклюзия комплекслари"ни яратишга имкон берадиган циклодекстринларнинг кимёвий хусусиятлари, бу "мехмон молекуласи" нинг эрувчанлиги, биомослиги ва бошқалар каби физик-кимёвий хусусиятларининг ўзгаришига олиб келади.

Диссертациянинг "Циклодекстринлар билан цинарозидни инклюзия комплексларини таҳлил қилишнинг инструментал усуллари" деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларни олиб бориш бошқичлари, уларнинг бажарилишида фойдаланилган материаллар ва усуллар келтирилган. Хусусан, ўсимлик экстрактларидаги цинарозиднинг сифат ва миқдорий таркиби, цинарозид ва циклодекстринлар орасидаги комплексларни ҳосил бўлиш параметрларининг назарий ҳисоб-китоблари, термогравиметрик таҳлил усуллари, калориметрик дифференциал сканерлаш, кукунли рентген диффрактометрияси, спектрофотометрия, ядро магнит резонанси, антирадикал фаолликни аниқлаш, каламуш аорта препаратларининг қисқариши, каламуш жигаридаги митохондрияни дифференциал центрифуга билан айратиш усули, митоK<sub>ATФ</sub> каналининг фаоллигини аниқлашнинг фотометрик усули, митохондриядаги липид пероксидланиш маҳсулотларини аниқлашнинг биокимёвий усули. Натижаларни статистик қайта ишлаш усуллари тавсифланган.

Диссертациянинг «**Цинарозидни циклодекстринлар билан комплексларини олиш ва уларни физик-кимёвий тавсифлаш усуллари**» деб номланган бешинчи бобида ўсимлик экстрактларидаги цинарозид миқдорини аниқлаш, цинарозид билан циклодекстринларни комплексларини олиш имкониятларини тасдиқловчи назарий ҳисоб-китоблар, цинарозидни билан циклодекстринлар комплексларни олиш ва уларни термограмма ҳамда дифрактограммаларини ўрганиш, сувли муҳитда цинарозидни эрувчанлигида циклодекстринларни ўрнини ўрганиш усуллари келтирилган.

Диссертациянинг «**Цинарозиднинг циклодекстринлар билан комплексларини биологик хусусиятлари**» деб номланган олтинчи бобида *in vitro* шароитида комплексларни каламуш аорта препаратининг қисқариши, митоK<sub>ATФ</sub>-канал фаолияти ҳамда Fe<sup>2+</sup>/аскорбат тизими билан чақирилган ЛПО жараёнига таъсирини ўрганишга бағишланган.

*Linaria vulgaris L., Galium verum L., Thymus pannonicus L., Hypericum perforatum L., Robinia pseudoacacia L., Melissa officinalis L., Salvia officinalis L.* ўсимликлар экстрактлари таркибидаги цинарозид миқдорининг скрининги Ўзбекистон миқёсида цинарозидни ажратиб олиш учун кенг қўламда

қўлланиладиган *Ferula varia* L. таркибидаги цинарозид микдорига яқин эканлиги аниқланди, бундан ташқари *Galium verum* L., *Thymus pannonicus* L., *Robinia pseudoacacia* L. ўсимликлари ҳам цинарозид олиш учун оптимал манба бўлиб хизмат қилиши мумкин.

*Цинарозид ва циклодекстринлар комплексларининг шаклланишини назарий ҳисоб-китоблари* комплексларнинг шаклланишини батафсил тадқиқ этиш кераклигини кўрсатиб берди.

*Фазали эрувчанлик профилларини (ФЭП) таҳлили усули ёрдамида цинарозид ва циклодекстринлар комплексларни шаклланишини баҳолаш* циклодекстринлар иштирокида цинарозидни эрувчанлиги ва флавоноидни биомойиллиги ортишига олиб келишини кўрсатиб берди. Таъкидлаш жойизки  $\gamma$ -ЦД ( $\gamma$ -циклодекстрин) учун ФЭП эрувчанлиги чекланган  $B_s$  – комплексга таалуқли ва натив циклодекстринлар учун хосдир; 2-ГП- $\beta$ -ЦД (2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин) иштирокида цинарозиднинг ФЭП профилнинг  $A_L$  типига мансуб бўлиб 1:1 стехиометрия билан комплекс шаклланишидан далолат беради.  $\gamma$ -ЦД ҳамда 2-ГП- $\beta$ -ЦД иштирокидаги цинарозиднинг сувли муҳитдаги эрувчанлиги бўйича олинган экспериментал натижаларга ва термодинамик параметрларга асосланиб олинган К қиймат манфий Гиббс энергияси  $\Delta G$  билан ифодаланган ва беихтиёр комплекслар ҳосил бўлишидан далолат беради. Шу билан бир қаторда иккала ҳолатда ҳам энтальпияни  $\Delta H^\circ$  қисман ортиши эндотермик жараён билан комплекслар ҳосил бўлишини кўрсатади.

*Комплексларнинг морфологияси.* Дастлабки бирикмаларнинг бирга бўғланиш, лиофил қуриштириш ҳамда механик аралашма (физаралашма) усуллари билан олинган цинарозид/ $\gamma$ -ЦД ва цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД комплексларининг наноструктур намуналарини таҳлили ёруғлик микроскопия натижаларга қараганда ҳар бир комплекслар учун ўзига хос морфологияси мавжудлигидан далолат беради. Индивидуал модда ва комплексларнинг микрофотосуратларда кристаллик ва аморф ҳолатларининг пайдо бўлиши/йўқолиши кузатилган.

*Кукунли рентген дифрактометрияси усули ёрдамида комплексларни шаклланишини тасдиқлаш* учун тоzza моддаларнинг кукунлари, физик аралашмаси ва цинарозид циклодекстрин билан олинган намуналари фойдаланилди. Олинган натижаларни солиштириш бўйича комплекслар ҳосил бўлиш натижасида кристалларнинг структураси ўзгаришини хулоса қилса бўлади. Комплексларни олинишининг турли усулларида фойдаланиш дифрактограммалардаги рентген нурларининг ёйилиши турли нақлардан иборатлигини кўрсатиб берди.

Механик аралашма ва бўғлатиш усули билан олинган цинарозид/ $\gamma$ -ЦД тизимида, айрим ҳолларда қўшимча пиклар пайдо бўлиши билан биргаликда (дифракции бурчаги ( $2\theta$ :  $5,02^\circ$  (физаралашма),  $5,2^\circ$  (бўғлатиш)), рентгенограммалар деярли бир ҳил бўлган, бундан ташқари  $\gamma$ -ЦД га ( $2\theta$ :  $15-16^\circ$  соҳасида) хос пиклар сақланиб қолган. Леофил қуриштириш усули билан олинган цинарозид/ $\gamma$ -ЦД тизимида цинарозид ва циклодекстрин учун хос пикларни ажратиш имкони бўлмаган. Мазкур олинган натижалар цинарозид

хамда циклодекстринларни кристаллик материал сифатида мавжуд эмаслигидан далолат беради ва микрофотосуратлар таҳлилини яна бир бор тасдиқлайди.

Цинарозид/2-ГП-β-ЦД тизимида (физик аралашма) рентгенограммалар 2-ГП-β-ЦД учун хос бўлган иккита кенгайган дифракцион пиклар билан ифодаланган бўлиб флавоноидлар учун хос пикларни ажратиш олиш имконини бермайди. Бу ҳолат цинарозид кристалл шаклда мавжуд эмаслигидан далолат беради ва унинг циклодекстрин билан қаттиқ комплекси аморф ҳолатда эканини изоҳлайди.

Бирга буғланиш ва лиофил қуритиш усуллари ёрдамида олинган цинарозид/2-ГП-β-ЦД тизими амор моддалар учун хос бўлган кучсиз сигнал ва профильни намоён қилганлигини кузатилади. 2-ГП-β-ЦД учун хос бўлган кенг пик намоён бўлган, бироқ унинг интенсивлиги жуда кам эканлиги аниқланган.

Индивидуал циклодекстрин ва цинарозидни, уларнинг комплекслари ҳамда физик аралашмаларинг *термик таҳлили* харорат чегараларини силжиши, интенсивлик ва шаклларни ўзгариши ҳамда комплексларни ҳосил бўлишидан далолат берувчи баъзи пикларни йўқолиши ва бошқа пикларни пайдо бўлиши аниқлашга имкон берди.

Лиофил қуритиш усули ёрдамида олинган цинарозид/γ-гамма-ЦД комплексининг термограммасида сувни буғланишидан далолат берадиган пик нисбатан пастроқ харорат соҳасига – 45,3°C силжиганини кўриш мумкин, шу билан биргаликда 258,1°C ва 299,5°C соҳаларида кўшимча пиклар ҳосил бўлган. Суюқланиш хароратининг қийматлари дастлабки компонентларнинг суюқланиш хароратига яқин жойлашга. Олинган натижалар цинарозид тўлиқ миқдорда эмас балки қисман циклодекстринга кириб, қолган қисми эркин ҳолатда эканлигидан далолат беради. Цинарозидни 2-НР-β-ЦД билан физик аралашмаси ҳамда буғлатиш усули ёрдамида олинган комплексининг термограммаларида сувни буғланишидан далолат берадиган пиклардан ташқари (53,6°C ва 56,7°C) бошқа ўзига хос пиклар йўқлигини кўрсатади. Цинарозиднинг комплекслардаги эндотермик пикининг тўлиқ йўқолиши цинарозидни ЦД ғовагига тўлиқ жойлашганидан далолат беради. Лиофил қуритиш усули ёрдамида олинган намуна 46,1°C даги сувни буғланиш эндотермасидан ташқари 239,6°C ва 318,54°C соҳаларида иккита кенг кўринишдаги пикларни ҳосил бўлганини кўрсатади.

Лиофиллаштирилган намуна термограммаларида – цинарозид/γ-ЦД ҳамда цинарозид/2-ГП-β-ЦД тизимларида – цинарозид ва циклодекстрин молекулаларини бир қисми боғланганлигидан далолат берувчи индивидуал компонентларга хос бўлган иккита кичкина эндотермик пикларни мавжудлигини кўрсатади.

Буғлатиш ва физик аралаштириш усуллари ёрдамида олинган намуналарнинг термограммаларида яққол намён бўладиган пикларнинг йўқлиги цинарозид ҳамда ЦД супрамолекуляр бирикма ҳосил қилишидан далолат беради. Сув молекулаларининг буғланиш хароратини кўтарилиши ҳам кристал ҳолатидаги сувни комплекслар ҳосил бўлишида иштирок

этишидан далолат беради. Олинган натижалар эритувчисиз физик аралаштириш усули ёрдамида олинган комплекслар янги қаттиқ фазали ҳолатда эканлигини кўрсатади. Буғлатиш ва механик аралаштириш усуллари билан олинган намуналардаги сувни буғланиш хароратининг ортиши комплекслар ҳосил бўлишида кўп ючрайдиган боғланган сувни мавжудлигидан далолат беради. Сувни буғланиш хароратининг пастроқ харорат соҳасига силжиши, масалан лиофил қуриштиш усулида, боғланмаган сувни буғланишидан далолат беради. Олинган натижалар комплекслар ҳосил бўлиш жараёнида сув молекулаларининг минимал миқдорда иштирок этиши муҳим аҳамиятни касб этадиган маълум фактлар билан боғлиқлигини кўрсатади.

Шундай қилиб, комплекслар ва физик аралашма термограммаларидан индивидуал цинарозид ва циклодекстринларнинг фазавий ўзгаришлари ва деструкцияси жараёнлар активация энергиясидаги фарқлар комплекслар ҳосил бўлганидан далолат беради.

*УВ-спектроскопия.* Циклодекстринларнинг цинарозиднинг сувда эрувчанлигини оширишга таъсирини аниқлаш учун мезбон ва мехмонларнинг ўзаро таъсирини ултрабинафша спектроскопик тадқиқотлар ўтказилди. Цинарозиднинг сувли эритмасида фақат битта кенгайтирилган чўққиси максимал 344 нм билан кузатилган.  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД деярли бутун спектрда сингиб кетмаслиги қайд этилган, шунинг учун уларнинг ассимиляция қобилиятини эътиборсиз қолдириш мумкин. Шуни таъкидлаш керакки, комплекслар спектрларининг ўзига хос хусусияти тепаликларнинг интенсивлигидаги фарқ эди. Шундай қилиб, бирга буғланиш усули билан олинган цинарозид/ $\gamma$ -ЦД комплекси, унинг ютилишида интенсивликнинг энг катта ўсишига эга - сувда эриган индивидуал цинарозиднинг ютилишига нисбатан навбати билан 22,2 марта. Шундай қилиб, цинарозид комплексларининг ултрабинафша спектрларининг  $\gamma$ -ЦД билан сингдирилиш интенсивлигининг кузатилиши цинарозиднинг эрувчанлигини оширувчи тузилмалар ҳосил бўлишидан келиб чиқади. Кўпгина ҳолларда циклодекстринлар текширилаётган модданинг сувли эритмасига қўшилганда, ютилиш спектрлари ҳолатининг ўзгариши ҳам кузатилади. Спектрофотометрик таҳлил шуни ҳам кўрсатдики, лиофил қуриштиш билан қуриштиш натижасида олинган цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД комплекси спектрларида батохром силжиш ва ютилиш максимумларининг ўзгариши индивидуал цинарозидга нисбатан. Спектр ўзгаришининг бу хусусияти, 2-ГП- $\beta$ -ЦД молекуласининг бўшлигига киритилганида, цинарозид молекуласининг ўзгаришини кўрсатади.

*ЯМР спектрометрия.* Цинарозид/ $\gamma$ -ЦД комплексида  $\gamma$ -ЦДнинг кимёвий силжишларида сезиларли ўзгаришлар қайд этилмаган.  $\gamma$ -ЦДнинг ички бўшлигини ҳосил қиладиган Н3 ва Н5 чоққилари учун  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрининг кимёвий силжишларининг ёқлиги шундан далолат берадики, цинарозид циклодекстриннинг бутун бўшлигини эгалламайди. Шунга қарамай, шуни таъкидлаш керакки,  $\gamma$ -ЦД бўлган комплекс сувли эритмадаги цинарозиднинг  $^1\text{H}$  ЯМР сигналларини ўз ичига олади, бу жуда муҳимдир, чунки юқорида айтиб

ўтилганидек, сувли еритмада индивидуал цинарозид мавжудлиги қайд этилмаган. Комплексдаги цинарозид сигналлари цинарозид учун одатий 6.0-7.4 м.д. оралиғида кенроқ ва зичроқ бўлиб намоён бўлди, бу молекулаларнинг ёпишишини кўрсатади ва инклюзия бўлмаган комплекслар учун хосдир. Анъанавий равишда, шакар сохаси бўйича интеграл 48 (бу битта  $\gamma$ -ЦД цикли) деб қабул қилинди, бу эса цинарозид бўйича интегрални хисоблаш имконини берди, яъни 0,37 эди, яъни битта цинарозид циклодекстриннинг 16 циклига тўғри келади.

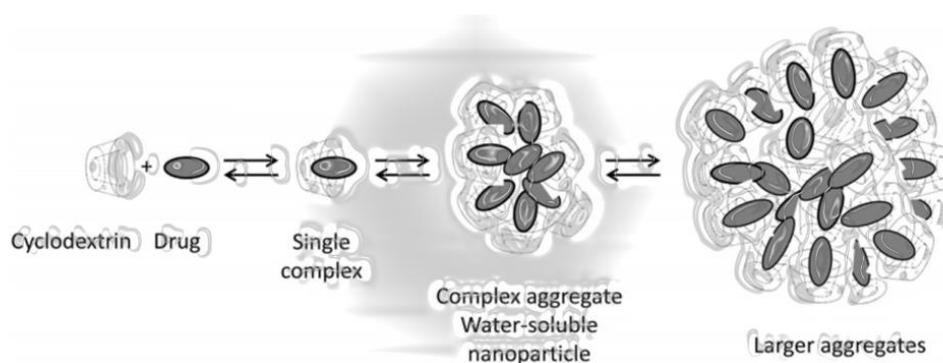
Цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД комплексининг спектри шакар қисмида ва циклодекстрин метил гурухида хеч қандақ ўзгариш кузатилмаганлигини кўрсатди. Цинарозиднинг спектри қайд этилди, у ўзини икки томонлама сигналлар тўплами сифатида намоён қилди, бу иккинчисининг молекулаларининг ўзаро жойлашишини кўрсатади ва унинг ЦДга боғланишини аниқ кўрсатиб беради. Цинарозиднинг айралмас сигнал интенсивлиги асосида битта цинарозид тахминан 27 ЦД циклда содир бўлиши хисоблаб чиқилган.

Шундай қилиб, физик-кимёвий усуллар билан олинган маълумотларни таҳлил қилиб, цинарозиднинг эрувчанлиги ошиши, флавоноид циклик олигосахариднинг бўшлигига қўшилганда, цинарозид ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД ўртасида инклюзия комплекси ҳосил бўлиши натижасида келиб чиқади деган хулосага келиш мумкин (1-расм).



1-расм. Цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД комплексининг тузилиши.

Инклюзив комплекс ҳосил бўлишидан ташқари, ЦДлар бўшлиққа киритилмасдан моддалар билан ўзаро таъсирлашиши ёки агрегат комплексларини ҳосил қилиши мумкин.  $\gamma$ -ЦД билан комплексда цинарозиднинг эрувчанлигининг ошиши флавоноидни циклодекстрин бўшлигига киритилишига эмас, балки агрегатлар ҳосил бўлишига асосланади (2-расм). Инклюзив равишда комплекслаш, мехмон молекуласининг циклодекстрин билан ўзаро таъсирининг алтернатив механизми бўлиши мумкин, бу эса бирикманинг хусусиятларини физикавий, кимёвий ва фармацевтик яхшиланишларга олиб келиши мумкин.



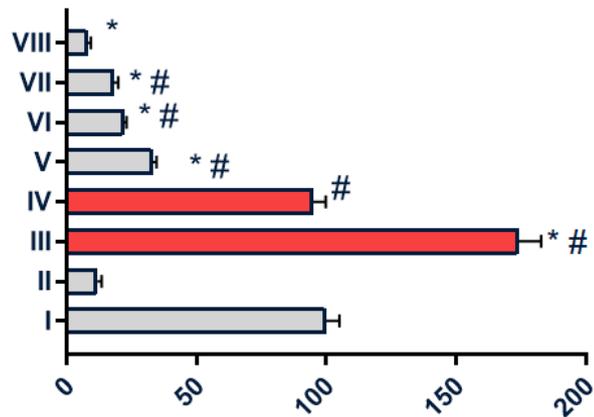
2-расм. Цинарозид/ $\gamma$ -ЦД комплексининг тузилиши.

Кейинги тажрибаларда куйидаги қисқартмалар қабул қилинди, бу комплексларнинг белгиланиши нисбати: Цин / $\gamma$ -ЦД (С) – Цинарозид/ $\gamma$ -ЦД (бирга бўғланиш усули); Цин/ $\gamma$ -ЦД (ЛС) – Цинарозид/ $\gamma$ -ЦД (лиофил қуритиш усули); Цин/ $\gamma$ -ЦД (МС) – Цинарозид/ $\gamma$ -ЦД (механик аралаштириш усули); Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (С) – Цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (бирга бўғланиш усули); Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС) – Цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (лиофил қуритиш усули); Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС) – Цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (механик аралаштириш усули); Цин (ДМСО) – Цинарозид (ДМСО эритувчиси); Цин (сув) – Цинарозид (сув эритувчиси).

*Цинарозид ва унинг комплексларининг антирадикал фаоллиги.* Комплексларнинг ДФПГ барқарор радикали билан ўзаро таъсирини ўрганиш натижалари шуни кўрсатдики, комплекслар эркин радикалларни, хусусан бўғлатиш натижасида олинган цинарозид/ $\gamma$ -ЦД комплекси, юқорирок қайтариш қобилиятига эга (20 мартабадан ортиқ). NO-радикалига нисбатан энг юқори ингибирлаши хусусияти цинарозид/ $\gamma$ -ЦД (С) ва цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС) да кузатилди.

МДА миқдорини ўрганиш шуни кўрсатдики, цинарозид/ $\gamma$ -ЦД (С) ва цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС) хузурида МДАнинг ингибирлаштириши сезиларли даражада кузатилган. Умуман олганда, олинган натижалар индивидуал цинарозид билан таққослаганда олинган комплексларнинг антиоксидант ва антирадикал фаоллигининг сезиларли даражада ошганлигини тасдиқлади.

*Цинарозид ва унинг комплексларининг аортанинг бўшашига таъсири.* Цинарозиднинг вазорелаксант таъсирини ўрганишда икки турдаги эритувчилардан (сув ва ДМСО) фойдаланилган, чунки цинарозиднинг сувдаги биомойиллиги чекланган ва флавоноидлар учун ДМСО самарали эритувчи эканлиги азалдан маълум. Кенг концентрацияли диапазонда (50 мМ гача), цинарозид (эритувчи ДМСО) каламуш аортаси препаратининг қисқариш фаоллигига таъсир қилмади, бироқ дастлабки КС1 (50 мМ) билан чақирилган аорта препаратидо дозага боғлиқ равишда -  $90,1 \pm 6,6\%$  гача кучли релаксант таъсир кўрсатди,  $IC_{50}$  концентрацияси (28,8 мМ) кейинги тажрибаларда ишлатилган.

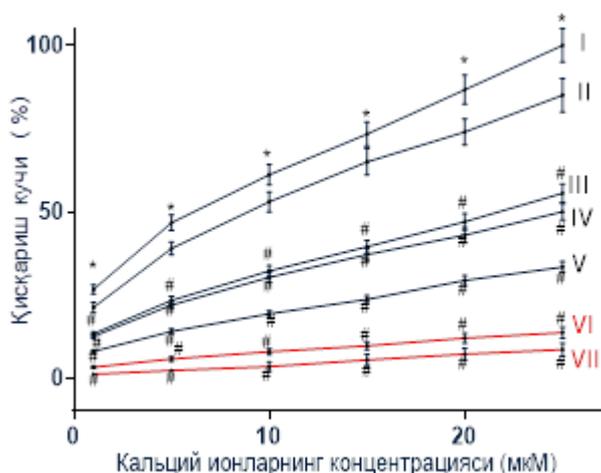


Аорта препаратларининг бўшашиш фоизи, n = 5

3-расм. Цинарозид ва унинг ЦД комплексларининг каламуш аорта препаратиди КС1 (50 мМ) билан чақирилган дастлабки қисқаришига вазорелаксант таъсири (*in vitro*). I - Цин (ДМСО); II - Цин (сув); III - Цин/γ-ЦД (С); IV - Цин/2-ГП-β-ЦД (ЛС); V - Цин/γ-ЦД (ЛС); VI - Цин/2-ГП-β-ЦД (МС); VII - Цин/γ-ЦД (МС); VIII - Цин/2-ГП-β-ЦД (МС). Цинарозид бўйича концентрацияси 28,8 мкМ. \* - Цин (ДМСО)га нисбатан статистик жихатдан ахамиятли фарқ (P<0.01). # - Цин (сув)га нисбатан статистик жихатдан ахамиятли фарқ (P<0.01)

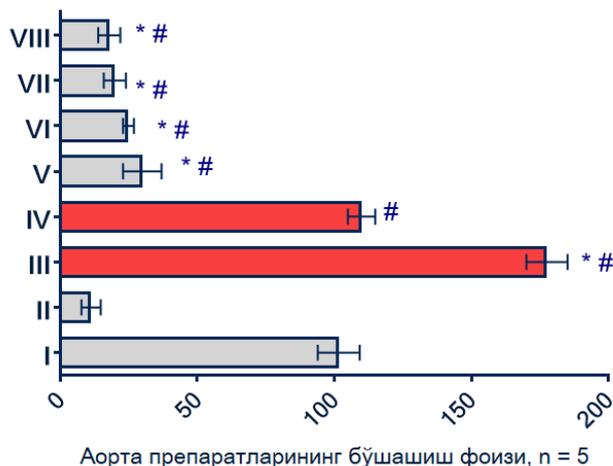
Комплексларни аорта препаратининг дастлабки қисқаришига таъсири 3 расмда келтирилган. Цинарозидни ва γ-ЦД комплексларини буғлаш усули билан олингани аортанинг препаратининг бўшашига энг самарали таъсир қилиши кузатилди - цинарозид билан таққослаганда деярли 2 маротаба. Кейинги энг самарали намуна леофил куритиш натижасида олинган цинарозид/2-ГП-β-ЦД намунаси бўлиб, индивидуал цинарозид намунасидан 15% йуқори таъсир этгани аниқланди.

Маълумки, аортанинг силлиқ мушак хужайралари (СМХ) нинг КС1 таъсирида қисқариши потенциалга боғлиқ калций каналларининг (Ca<sup>2+</sup> L-каналлари) фаоллашиши билан боғлиқ. Ca<sup>2+</sup> ионларининг кумулятив қўшилиши қисқариш жараёнларини ривожланиши билан кузатилди. Комплексларнинг қўшилиши аортанинг қисқариш фаоллигини пасайишига олиб келгани аниқланиб, энг юқори самарадорликни буғлатиш усули билан олинган цинарозид/γ-ЦД комплекси ва леофил куритиш усули билан олинган цинарозид/2-ГП-β-ЦД комплекси кўрсатди, бу эса калций ионлари фониди аортанинг 80% гача бўшашишига олиб келиб (4-расм), комплексларнинг релаксант таъсирини амалга оширишда хужайра ташқарисиди калций ионларининг муҳим ахамиятини тасдиқлайди ва силлиқ мушак хужайралари плазматик мембраналарининг потенциалга боғлиқ калций каналлари билан комплексларнинг ўзаро таъсири мавжуд эканлигини тасдиқлайди.



4-расм. Кальций ионлари иштирокидаги КС1 (50мМ) билан чақирилган аорта бўшашини эгри чизиклари. (n=4-5). I – CaCl<sub>2</sub> (назорат); II – Цин (сув); III - Цин/γ-ЦД (ЛС); IV - Цин/2-ГП-β-ЦД (С); V - Цин (ДМСО); VI - Цин/2-ГП-β-ЦД (ЛС); VII - Цин/γ-ЦД (С). n – такрорлашлар сони. \* - Назоратга нисбатан статистик фарқланиш. Ишончлилилик даражаси P < 0,05.

Ушбу тахминни тасдиқлаш учун кейинги тажрибаларимизда цинарозид флавоноиднинг релаксат таъсири верапамил (0,1 мМ), специфик Ca<sup>2+</sup>L-канал блокатори томонидан сезиларли даражада камайгани аниқланди: верапамил аортанинг КС1 таъсирида қисқариш таъсири 50,3 ± 4,5 % га камайтиргани аниқланди. Аортани цинарозид дастлабки инкубация қилиш қисқариш кучини 18,6 ± 4,9% га камайтирди. Верапамил эффекти фонид аорта препаратига цинарозид/γ-ЦД намунасини кўшилиши аорта препаратларининг кўшимча бўшашишига олиб келди - бу назорат билан таққослаганда деярли 80% ни ташкил қилган. Цинарозид/2-ГП-β-ЦД намунаси (леофил қуритиш усулида олинган) ҳам вазорелаксат таъсирини юқори даражада кўрсатди (5-расм).

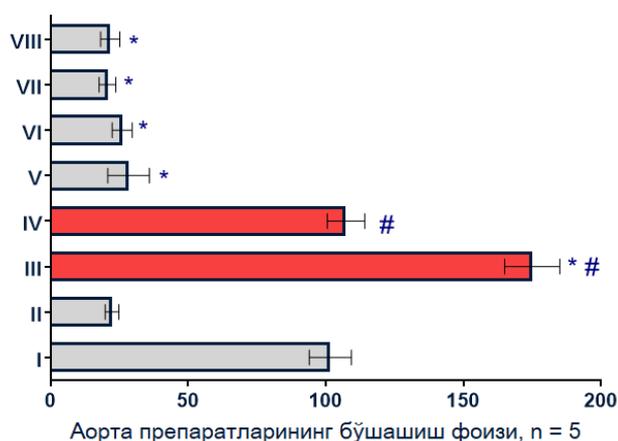


5-расм. Цинарозид ва унинг ЦД комплексларининг верапамил (ўзига хос кальций канал блокатор) иштирокида КС1 (50 мМ) билан чақирилган дастлабки қисқаришига вазорелаксат таъсири (*in vitro*). I - Цин (ДМСО); II - Цин (сув); III - Цин/γ-ЦД (С); IV - Цин/2-ГП-β-ЦД (ЛС); V - Цин/γ-ЦД (ЛС); VI - Цин/2-ГП-β-ЦД (МС); VII - Цин/γ-ЦД (МС); VIII - Цин/2-ГП-β-ЦД (МС). Цинарозид бўйича концентрацияси 28,8 мкМ. \* - Цин (ДМСО)га нисбатан

статистик жихатдан ахамиятли фарқ ( $P < 0.01$ ). # - Цин (сув)га нисбатан статистик жихатдан ахамиятли фарқ ( $P < 0.01$ ).

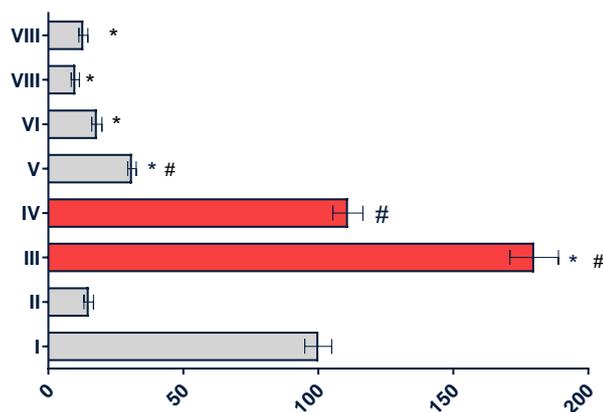
Шундай қилиб, комплексларнинг верапамил эффеќти фонида аорта препаратларини кўшимча равишда бўшатиш хусусияти, бир томондан, релаксанти таъсирининг асосини потенциалга боғлиқ калций каналларини комплекслар билан блоклаш эканлигини тасдиқлайди; бошқа томондан, рецепторга боғлиқ калций каналлари билан ўзаро боғлиқликни ўз ичига олади.

Ушбу тахмин комплексларнинг релаксанти таъсирини ўрганишда фенилэфрин билан чаќирилган аорта препаратининг қисқаришга таъсири билан ҳам тасдиқланди. Бундай шароитда комплекслар сезиларли вазорелаксанти таъсир кўрсатади, бу айниқса буғлатиш натижасида олинган цинарозид/ $\gamma$ -ЦД комплексида (деярли 20 марта) ва цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД комплексида дярли 10 марта ортгани аниқланган (6-расм). Шундай қилиб, комплексларнинг вазорелаксанти таъсири рецептор орќали бошқариладиган калций каналларини блоклаш орќали амалга оширилиши кўрсатилди.



6-расм. Каламуш аорта препарати фенилэфриннинг (ФЕ, 1 мкМ) таъсирида қисқаришига цинарозид ва унинг ЦД-комплексларининг вазорелаксанти таъсири (*in vitro*). I - Цин (ДМСО); II - Цин (сув); III - Цин/ $\gamma$ -ЦД (С); IV - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС); V - Цин/ $\gamma$ -ЦД (ЛС); VI - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС); VII - Цин/ $\gamma$ -ЦД (МС); VIII - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС). Цинарозид бўйича концентрацияси 28,8 мкМ. \* - Цин (ДМСО)га нисбатан статистик жихатдан ахамиятли фарқ ( $P < 0.01$ ). # - Цин (сув)га нисбатан статистик жихатдан ахамиятли фарқ ( $P < 0.01$ ).

Маълумки, фенилэфрин билан мембраналарни деполяризацияси ҳолатидаги бирикмаларнинг релаксанти таъсири, ишемия ва гипоксия ҳолатида миокардни ҳимоя қилишда муҳим ахамият касб этадиган АТФга боғлиқ калий канал билан ҳам бевосита боғлиқ. Бизнинг тадқиқотларимизда олинган комплекслар сезиларли даражада (20 ва 10 баробар) АТФ га боғлиқ калий канални фаоллаштириши аниқланган (7-расм).



АТФга боғлиқ бўлган калий каналининг фаоллашиш фоизи, n = 5

7-расм. Цинарозид ва унинг ЦД-комплексларининг АТФга боғлиқ калий каналининг фаоллигига таъсири (*in vitro*). I - Цин (ДМСО); II - Цин (сув); III - Цин/ $\gamma$ -ЦД (С); IV - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС); V - Цин/ $\gamma$ -ЦД (ЛС); VI - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС); VII - Цин/ $\gamma$ -ЦД (МС); VIII - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС). Цинарозид бўйича концентрацияси 28,8 мкМ. \* - Цин (ДМСО)га нисбатан статистик жихатдан ахамиятли фарқ ( $P < 0.01$ ). # - Цин (сув)га нисбатан статистик жихатдан ахамиятли фарқ ( $P < 0.01$ ).

Олинган натижаларни эътиборга олган ҳолда цинарозид комплексларининг релаксат эффектнинг механизми потенциалга боғлиқ ва рецепторга боғлиқ кальций каналларни блоклаб ҳамда АТФга боғлиқ калий канални фаоллаштириш орқали СМХ цитозолига  $Ca^{2+}$  оқимини камайтириши билан боғлиқ эканлиги кўрсатиб берилган.

## ҲОТИМА

Цинарозид флавоноиди  $\gamma$ -ЦД билан агрегат типдаги, 2-ГП- $\beta$ -ЦД билан эса “меҳмон-мезбон” типдаги комплекслар ҳосил қилади. Барқорорлик константалари комплексларни юқори стабилликка эга эканлигидан далолат беради. Комплекс ҳосил бўлишдаги Гиббс эркин энергияси ( $\Delta G < 0$ ) ва энтальпиянинг ( $\Delta H < 0$ ) юқори манфий кўрсаткичлари ҳамда энтропия ўзгаришининг ( $\Delta S > 0$ ) мусбат кўрсаткичлари жараённи ўз-ўзидан ва экзотермик эканлигидан далолат беради. Цинарозидни циклодекстринлар бўшлиғига жойлашиб, супрамолекуляр комплекс ҳосил қилиши унинг антиоксидант ва антирадикал потенциалини ортишига олиб келади. Индивидуал цинарозидга нисбатан ЦД-комплекслари сарколемманинг потенциалга боғлиқ ва рецепторга боғлиқ каналларга таъсир этиб, каламуш аорта препаратининг дастлабки қисқаришини самаралироқ бўшаштиради ҳамда АТФ га боғлиқ калий канални фаоллаштиради.

## ХУЛОСАЛАР

1. Циклодекстринларни цинарозид билан комплексларини олиш имкониятлари назарий ҳисоблаб чиқилган барқорорлик константалари (K) билан асосланганлиги билан изоҳланади.

2. Фазали эриш профили усули ёрдамида цинарозидни эрувчанлигида ЦД дан фойдаланиш самарадорлиги исботланган.

3. Цинарозиднинг эрувчанлик даражасини ортиши  $\gamma$ -ЦД ва 2-ГП- $\beta$ -ЦД иштирокида буғлатиш, лиофил қуритиш ва механик аралаштириш усуллари билан олинган комплекслар билан изоҳланади, жумладан цинарозид/ $\gamma$ -ЦД (Б) намунаси агрегат типини ташкил қилади, цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛҚ) намунаси эса комплексни ташкил қилади.

4. Цинарозиднинг ЦД-комплекслари индивидуал цинарозидга нисбатан ДФПГ ва NO радикаллари самаралироқ ингибирлаши аниқланган ҳамда (*in vitro*) комплекслар каламуш жигар митохондрияларидаги мембрана липидларини перекисли оксидланишини самаралироқ ингибирлаши аниқланган.

5. Индивидуал цинарозидга нисбатан цинарозид/ $\gamma$ -ЦД 10 мартаба ва цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД комплекси эса 15 мартаба юқори вазорелаксанти хусусиятни намоён қилиши аниқланган ( $P < 0,05$ ). Таъсир қилиш механизми потенциалга боғлиқ, рецепторга боғлиқ ва АТФга боғлиқ калий каналга таъсир қилиши билан изоҳланади.

6. Цинарозидни циклодекстринлар билан комплекслари янги турдаги самарали дори шакилларини яратиш учун тавсия этилган.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.02/30.12.2019. К/В. 37.01  
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЁНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ  
БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

---

**ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

**ГАЙИБОВА САБИНА НАРИМАНОВНА**

**ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ  
ВОДОРАСТВОРИМЫХ КОМПЛЕКСОВ ЦИНАРОЗИДА С  
ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ**

**02.00.10 – Биоорганическая химия**

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

**Ташкент – 2020**

**Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2020.2.PhD/B473**

Диссертация выполнена в Институте биоорганической химии.

Автореферат диссертации на трех языках (русский, узбекский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ([ibb-nuu.uz](http://ibb-nuu.uz)) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» ([www.ziyo.net](http://www.ziyo.net)).

**Научный руководитель:** **Арипов Тахир Фатихович**  
доктор биологических наук, академик

**Официальные оппоненты:** **Ощепкова Юлия Игоревна**  
доктор химических наук, с.н.с.

**Тагайалиева Нигора Абдунабиевна**  
кандидат биологических наук, с.н.с.

**Ведущая организация:** **Институт Микробиологии**

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 года в \_\_\_ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 при Институте биоорганической химии (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биоорганической химии (зарегистрировано под № \_\_\_). (Адрес: 100125, г. Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83. Тел.: 71-262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: shsha@mail.ru).

Автореферат диссертации разослан: «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.  
(реестр протокола рассылки № «\_\_\_» от \_\_\_\_\_ 2021 г).

**Ш.И. Салихов**  
Председатель Научного совета по присуждению  
учёных степеней, д.б.н., академик

**Ш.А. Шомуротов**  
Учёный секретарь Научного совета по  
присуждению учёных степеней, д.х.н.

**М.Б. Гафуров**  
Председатель Научного семинара при Научном совете  
по присуждению учёных степеней, д.х.н.

## **ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))**

**Актуальность и востребованность темы диссертации.** В настоящее время в мире наиболее перспективной стратегией фармацевтического воздействия при различных заболеваниях является использование соединений природного происхождения. В связи с этим большое внимание привлекают флавоноиды, выделенные из растений, как вещества, комплексно влияющие на биологическую активность клеток человека и животных. Несмотря на высокую фармакологическую активность флавоноидов, они обладают низкой биодоступностью в организме по сравнению с ксенобиотиками. Поэтому важно использовать различные технологические методы для увеличения биодоступности препаратов на основе флавоноидов и улучшения их терапевтического потенциала. Поэтому одной из важных задач является использование различных технологических методов для увеличения биодоступности и улучшения терапевтического потенциала препаратов на основе флавоноидов.

В настоящее время в мире разработка новых и усовершенствование уже известных лекарственных средств связано, в том числе с особенностями систем доставки лекарств в организм человека, которые позволяют существенно повысить биодоступность и снизить их дозировку. Особую роль в этом отношении играют циклодекстрины (ЦД). В частности, при создании макромолекулярных терапевтических систем, путем получения молекулярных комплексов, проводятся исследования в следующих направлениях: получение полимерных носителей с регулируемыми молекулярными параметрами и физико-химическими свойствами на основе ЦД; разработка методов иммобилизации лекарственных препаратов с ЦД; изучение механизмов действия макромолекулярных лекарственных систем и разработка промышленных технологий для их производства.

В настоящее время в Республике, особое внимание уделяется разработке новых, эффективных, импортозамещающих лекарственных препаратов на основе местного сырья и обеспечению населения качественными лекарствами. В частности, изучение биологической активности препаратов на основе флавоноидов обладающих гипотензивными и антиоксидантными свойствами и повышение его биодоступности путём получения его комплексов с ЦД является важным. В 4-направлении Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены важные задачи по «дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, улучшению обеспечения населения и медицинских учреждений доступными, качественными лекарственными средствами»<sup>2</sup>. В этой связи создание высокоэффективных и дешевых лекарственных средств, конкурентоспособных на мировом рынке, на основе местного растительного сырья имеет важное значение.

---

<sup>2</sup> Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года УП-4947- «о стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан на 2017-2021 годы

Диссертационное исследование служит для выполнения задач, указанных в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», Указе Президента Республики Узбекистан УП-5229 "О мерах по коренному совершенствованию системы управления фармацевтической сетью" от 7 ноября 2017 года, Постановлении Президента Республики Узбекистан от 14 февраля 2018 года ПП№-2640 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной 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 широкому использованию флавоноидов в качестве лекарственных средств. В частности, Wu MJ и соавторы показали, что цинарозид *in vitro* защищал линии клеток кардиомиобластомы H9C2 от H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-индуцированного апоптоза за счет подавления избытка активных форм кислорода и ингибирования активации каспазы как в митохондриях, так и посредством рецепторов смерти TNF. Rump AFE и соавторы обнаружили антиишемический эффект цинарозида на моделях изолированного сердца крыс. Также эксперименты *in vitro* показали, что цинарозид ингибирует свободные радикалы, снижает окисление липопротеинов низкой плотности и уровень холестерина и триглицеридов в крови.

В настоящее время широко изучаются полифенолы и их комплексы включения с циклодекстринами. Так, проф. Усачева с соавторами было показала значительное улучшение растворимости рутина в присутствии β-ЦД и установили линейную зависимость растворимости рутина от концентрации макроцикла. Проф. А. Г. Вейко и коллеги (2018) получили комплекс кверцетин–гидроксипропил-β-циклодекстрин, который оказался более эффективен в качестве ингибитора процессов перекисного окисления мембранных липидов и окисления глутатиона, чем индивидуальный полифенол.

В нашей республике цинарозид, получаемый из *Ferula varia* сотрудниками Института Химии Растительных Веществ был сопоставим с известным лекарственным препаратом леспенфрил по гипоазотемическому действию. Проф. Сыровым В.Н. и другими разработана технология производства новой лекарственной формы цинарозида в таблетках по 0,05 г.

Однако, несмотря на многочисленные исследовательские работы, комплексы цинарозида с циклодекстринами не были получены и исследованы, хотя такие исследования могут расширить обоснования применения цинарозида для терапии широкого спектра заболеваний.

**Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена диссертация.** Диссертационное исследование

выполнено в рамках плана научно-исследовательской работы молодёжного прикладного проекта Института биоорганической химии АН ФА-АЕО-11 «Разработка оптимального метода получения водорастворимых комплексов включения лютеолина и его производного цинарозида с циклодекстринами и изучение их биологической активности» (2017-2018 гг.).

**Целью исследования** является сравнительное влияние типа циклодекстрина и методов получения комплексов на биологическую активность цинарозида и структуру полученных комплексов.

**Задачи исследования:**

рассчитать теоретическими методами *in silico* возможность использования  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД в качестве вспомогательных веществ для повышения растворимости цинарозида;

установить эффективность применения  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД методом профиля фазовой растворимости;

получить комплексы цинарозида с  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД методами соиспарения и лиофильного высушивания и подтвердить образование комплексов набором физико-химических методов;

определить эффекты цинарозида и его ЦД-комплексов на активность свободных радикалов и перекисное окисление мембранных липидов митохондрий печени крыс при моделировании окислительных повреждений *in vitro*;

определить вазорелаксантные эффекты и механизм действия цинарозида и его супрамолекулярных комплексов с ЦД на препаратах аорты крыс *in vitro*;

определить перспективность использования полученных комплексов для разработки различных форм новых лекарственных препаратов.

**Объектами исследования** являются цинарозид,  $\gamma$ -циклодекстрин, 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин, комплексы цинарозид/ $\gamma$ -циклодекстрин и цинарозид/2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин (полученные методами соиспарения и лиофильного высушивания, а также физическая смесь), препараты аорты крыс, митохондрии печени крыс, митоКАТФ-канал, перекисное окисление липидов.

**Предметом исследования** является получение комплексов цинарозида с  $\gamma$ -циклодекстрином ( $\gamma$ -ЦД) и 2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрином (2-ГП- $\beta$ -ЦД), изучение влияния физико-химических характеристик комплексов цинарозид/ $\gamma$ -ЦД и цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (полученные методами соиспарения и лиофильного высушивания, а также физическая смесь), биодоступность комплексов на препарате аорты, функциональных параметрах митохондрий, перекисном окислении мембраноактивных свойств флавоноидов растений, их влияние на функциональные свойства митохондрий печени крыс, а также антирадикальную активность.

**Методы исследования.** В ходе исследования использованы современные методы биоорганической химии и биофизики, такие как рентгеновская порошковая диффрактометрия, дифференциальная сканирующая калориметрия и термогравиметрический анализ, оптическая

микроскопия, УФ-спектроскопия, ЯМР-спектрокопия, дифференциальное центрифугирование, фотометрия, спектрофотометрия.

**Научная новизна исследования** заключается в следующем:

установлено, что в присутствии  $\gamma$ -ЦД фазовый профиль растворимости цинарозида соответствует В-типу, а в присутствии 2-ГП- $\beta$ -ЦД фазовый профиль растворимости цинарозида соответствует  $A_L$ -типу;

установлено повышение растворимости цинарозида в присутствии и  $\gamma$ -ЦД, и 2-ГП- $\beta$ -ЦД, а также физико-химическими методами доказано образование комплексов цинарозид/ $\gamma$ -ЦД и цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД, полученных методами соиспарения, лиофильного высушивания и механического смешивания;

установлено, что комплексы цинарозида с циклодекстринами проявляют значительное релаксантное действие по сравнению с индивидуальным цинарозидом;

установлено, что комплексы цинарозида с циклодекстринами активируют митоКАТФ-канал печени в большей степени, чем индивидуальные компоненты;

доказано повышенное ингибирование комплексами цинарозида с циклодекстринами стабильного радикала ДФПГ, радикала NO, перекисного окисления липидов в мембранах митохондрий, индуцированного системой  $Fe^{2+}$ /аскорбат в сравнении с индивидуальными компонентами.

**Практические результаты исследования** заключаются в следующем:

установлены оптимальные методы получения комплексов цинарозида с  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД;

установлено повышение растворимости цинарозида в водной среде в комплексе с  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД;

установлено повышение антиоксидантных и релаксантных свойств цинарозида в комплексе  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД.

**Достоверность результатов исследований** подтверждается тем, что они получены с применением современных физико-химических и биофизических методов и приборов. Подтверждением достоверности полученных данных служит заключение экспертов при опубликовании результатов этих исследований в рецензируемых научных журналах. Для статистической обработки достоверности различий в сравниваемых показателях использовали коэффициент Стьюдента, компьютерные программы Origin 6.1 (OriginLab Corporation, США), Graph Pad Prism 8 (GraphPad Software, США).

**Научная и практическая значимость результатов исследования.**

Научная значимость результатов исследования обусловлена получением комплексов цинарозида с  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД, установлением физико-химических параметров полученных комплексов, изучением релаксантного действия комплексов, выяснением механизмов модуляции митоКАТФ-канала, что служат методическим руководством для новых научных исследований в этой области.

Практическое значение результатов исследования заключалось в том, выявленные фармакологические эффекты цинарозида обогащают современные научные представления о молекулярных факторах, выступающих специфическими мишенями для воздействия цинарозида, что служит научной основой для его более эффективного клинического применения.

**Практическая значимость результатов** исследования заключается в том, что полученные комплексы проявляют более высокие антирадикальные, антиоксидантные и релаксантные свойства, что позволяет на их основе разработать новые формы лекарственных средств.

**Внедрение результатов исследований.** На основании полученных результатов по получению комплексов цинарозида с циклодекстринами и скринингу биологической активности:

результаты о влиянии цинарозида и его комплексов с циклодекстринами на сократительную активность препаратов аорты крыс были использованы в проекте фундаментальных исследований по определению влияния биологической активных веществ на гладкомышечные клетки сердечно-сосудистой системы ФА-Ф-6 «Юрак - кон томир хужайралари истикболли нишонларини модуляция механизларининг комплекс тавсифи» (справка Академии Наук Республики Узбекистан № 4/1255-2770 от 10 декабря 2020 года). Результаты позволили определить, что комплексы с циклодекстринами проявляют более выраженное релаксантное действие;

результаты улучшения нейрозащитных свойств цинарозида при повышении растворимости цинарозида в супрамолекулярном комплексе с циклодекстринами были использованы в проекте Автономного Университета Барселоны, Испания “Полимерные наноносители для доставки лекарственных веществ” (письмо поддержки от 19 ноября 2020 года). В результате появилась возможность изучения биологической активности комплекса цинарозид/циклодекстрин.

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

**Опубликованность результатов.** По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них 3 научных статьи, в том числе 2 в республиканских и 1 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

**Структура и объем диссертации.** Структура диссертации состоит из введения, четырёх глав, выводов, списка использованной литературы. Объём диссертации составляет 105 страниц.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Во введении** обосновываются актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет исследования, показано соответствие исследования

приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, научно-практическая значимость полученных результатов, внедрение результатов исследования в практику, приведены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Перспективы применения цинарозида: современный взгляд на проблему»** анализируется современная литература, посвященная обзору исследований по изучению биологической активности цинарозида *in vitro* и *in vivo*, современным подходам по увеличению биодоступности флавоноидов с целью расширения их практического применения, также рассмотрены уникальные физико-химические характеристики циклодекстринов, пространственная структура которых позволяет образовывать так называемые «комплексы включения», что приводит к изменению физико-химических свойств «молекулы-гостя», таких как растворимость, биодоступность и другие.

Во второй главе диссертации **«Инструментальные методы анализа комплексов включения цинарозида с циклодекстринами»** приведены этапы исследования, материалы и методы, использованные при выполнении данной работы. В частности, качественное и количественное содержание цинарозида в растительных экстрактах, теоретические расчёты параметров образования комплексов между цинарозидом и циклодекстринами, методы термогравиметрического анализа, дифференциальной сканирующей калориметрии, порошковой диффрактометрии, спектрофотометрии, ядерного магнитного резонанса, определения антирадикальной активности, сокращения препаратов аорты крыс *in vitro*, метод выделения митохондрий из печени крыс дифференциальным центрифугированием, фотометрический метод определения активности митоK<sub>ATФ</sub>-канала, биохимический метод определения продуктов ПОЛ в митохондриях. Описаны методы статистической обработки результатов.

Третья глава диссертации под названием **«Получение комплексов включений цинарозида с циклодекстринами и физико-химические способы их характеристики»** посвящена установлению содержания цинарозида в растительных экстрактах, теоретическим расчетам, подтверждающим возможность использования циклодекстринов для получения комплексов с цинарозидом, получению комплексов цинарозида с циклодекстринами и изучению термограмм и дифрактограм полученных комплексов, изучению влияния циклодекстринов на повышение растворимости цинарозида в воде. Четвертая глава диссертации **«Биологические свойства комплексов цинарозида с циклодекстринами»** посвящена изучению влияния и механизмов действия комплексов на сократимость препаратов аорты крыс *in vitro*, изучению влияния комплексов на активность митоK<sub>ATФ</sub>-канала, а также на процесс антирадикальной активности по отношению кДФПГ и NO-радикалу, и ПОЛ, индуцированного Fe<sup>2+</sup>/аскорбат системой и.

Скрининг содержания цинарозида в растительных экстрактах растений *Linaria vulgaris* L., *Galium verum* L., *Thymus rannonicus* L., *Hypericum perforatum* L., *Robinia pseudoacacia* L., *Melissa officinalis* L., *Salvia officinalis* L. показал, что наравне с *Ferula varia* L., широко используемой в Узбекистане для выделения цинарозида, растения *Galium verum* L., *Thymus rannonicus* L., *Robinia pseudoacacia* L. также могут служить оптимальными источниками для получения цинарозида.

Теоретическое прогнозирование формирования комплексов циклодекстринов с цинарозидом показало необходимость детального изучения формирования комплексов цинарозида с циклодекстринами.

Прогнозирование формирования комплексов циклодекстринов с цинарозидом методом анализа профилей фазовой растворимости (ПФР) цинарозида в присутствии циклодекстринов показало повышение растворимости цинарозида в присутствии циклодекстринов, что в свою очередь способствует повышению биодоступности флавоноида. Следует отметить, что  $\gamma$ -ЦД ( $\gamma$ -циклодекстрин) ПФР соответствует типу  $B_S$  - комплексу с ограниченной растворимостью, что характерно для нативных циклодекстринов; ПФР цинарозида в присутствии 2-ГП- $\beta$ -ЦД (2-гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин) соответствует типу  $A_L$  профиля и указывает на формирование комплекса со стехиометрией 1:1. Экспериментально полученные значения  $K$ , а также соответствующие термодинамические параметры растворения цинарозида в водной фазе в присутствии как  $\gamma$ -ЦД, так и 2-ГП- $\beta$ -ЦД характеризовалась отрицательным значением энергии Гиббса  $\Delta G$ , что указывает на самопроизвольный процесс, в то время как небольшие положительные значения энтальпии  $\Delta H^\circ$  в обоих случаях характеризует процесс комплексообразования как эндотермический.

Морфология комплексов. Микроскопический анализ исходных соединений и образцов наноструктур цинарозид/ $\gamma$ -ЦД и цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД, полученных методами соиспарения и лиофильного высушивания, а также контрольный образец, полученный способом механического смешивания (физическая смесь), показал явные различия в морфологии каждого отдельного комплекса, индивидуального соединения и физической смеси веществ: отличие в структурной поверхности, образование/исчезновение кристалличности и аморфности комплексов и индивидуальных образцов.

Установление формирования комплексов методом порошковой рентгеновской диффрактометрии проводилось путем анализа порошка чистых веществ, физической смеси компонентов и порошка кристаллов комплексов включения. Сравнение полученных данных позволяет сделать вывод об изменении структуры кристаллов, произошедших в результате процесса образования комплексов. Использование различных методов получения комплексов включения привело к тому, что на диффрактограммах наблюдались различные паттерны рассеяния рентгеновского излучения.

В системах цинарозид/ $\gamma$ -ЦД, полученных методом соиспарения и механического смешивания, рентгенограммы были практически идентичны,

за исключением появления новых пиков, которые отсутствовали у исходных компонентов (углы дифракции ( $2\theta$ :  $5,02^\circ$  (физсмесь),  $5,2^\circ$  (соиспарение)), также сохранялись некоторые характерные пики  $\gamma$ -ЦД ( $2\theta$ : в области  $15-16^\circ$ ). На дифрактограммах системы цинарозид/ $\gamma$ -ЦД, полученной методом лиофильного высушивания, было невозможно выделить характерные пики цинарозида или циклодекстрина. Эти результаты указывают на то, что как цинарозид, так и циклодекстрин больше не присутствуют в виде кристаллического материала, и их твердые комплексы существуют в аморфном состоянии, что еще раз подтверждает результаты анализа микрофотографий данного образца. В системе цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (физсмесь) рентгенограммы характеризовались только двумя уширенными дифракционными пиками, характерными для 2-ГП- $\beta$ -ЦД, в которых уже невозможно различить характерные пики флавоноида. Эти результаты подтверждают, что цинарозид больше не присутствует в виде кристаллического материала, и его твердые комплексы с циклодекстрином существуют в аморфном состоянии.

Системы цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД, полученные методами соиспарения и лиофильного высушивания, показали довольно слабые сигналы и профиль, характерный для веществ в аморфном состоянии. Уширенный пик, характерный для 2-ГП- $\beta$ -ЦД, присутствовал, но с гораздо меньшей интенсивностью.

*Термический анализ* комплексов включения, индивидуальных циклодекстринов и индивидуального цинарозида, а также физической смеси компонентов позволил обнаружить сдвиги температурных границ, изменение формы и интенсивности, а также исчезновение или появление отдельных пиков, что свидетельствует об образовании комплексов включения. На термограммах комплекса цинарозид/ $\gamma$ -гамма-ЦД, полученного методом лиофильного высушивания, пик испарения воды сдвинулся в более низкотемпературную область –  $45,3^\circ\text{C}$ , при этом появились новые пики в области  $258,1^\circ\text{C}$  и  $299,5^\circ\text{C}$ . Данные значения температур плавления находятся близко к значениям плавления исходных компонентов. Полученные результаты указывают на то, что не весь цинарозид вошел в ЦД, а часть его осталась в свободном виде. Физическая смесь цинарозида с 2-HP- $\beta$ -CD, так же, как и комплекс, полученный методом соиспарения показала отсутствие характерных пиков, кроме пиков испарения воды ( $53,6^\circ\text{C}$  и  $56,7^\circ\text{C}$ ). Полное исчезновение эндотермического пика цинарозида в комплексах свидетельствует о том, что цинарозид был хорошо внедрен в полость ЦД. Образец, полученный методом лиофильного высушивания, показал, помимо эндотермы испарения воды при  $46,1^\circ\text{C}$ , как и в случае с  $\gamma$ -ЦД два широких пика при слегка отличных температурах  $239,6^\circ\text{C}$  и  $318,54^\circ\text{C}$ . Термограммы лиофилизированных образцов – как в системе цинарозид/ $\gamma$ -ЦД, так и в системе цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД – показали присутствие двух небольших характерных для индивидуальных компонент, эндотермических пика, что указывает на взаимодействие лишь части молекул цинарозида с ЦД. Отсутствие выраженных пиков в термограммах образцов, полученных

методами физической смеси и соиспарения, свидетельствует о надмолекулярном (супрамолекулярном) взаимодействии между цинарозидом и ЦД. Повышение температуры испарения воды также может свидетельствовать об участии кристаллизационной воды в образовании комплекса. Эти результаты показывают, что комплексы включения, полученные физическим смешиванием без растворителя существуют в новом твердофазном состоянии. Высокие значения температуры испарения воды, наблюдаемые в образцах, полученных методами соиспарения и механического смешивания, указывают на присутствие связанной воды, что часто наблюдается при образовании комплексов включения. В то время как переход температуры испарения воды в более низкотемпературную область в случае метода лиофильной сушки указывает на испарение не связанной воды, адсорбированной из воздуха. Наши данные коррелируют с хорошо известным фактом, что минимальное присутствие воды имеет важное значение для образования комплекса включения.

Таким образом, отличия в характере фазовых переходов и энергии активации процесса деструкции индивидуальных цинарозида и циклодекстринов по сравнению с их термограммами в составе комплексов включения и в составе физической смеси свидетельствуют об образовании комплексов включения

*УФ-спектроскопия.* Ультрафиолетовые спектроскопические исследования взаимодействий хозяин-гость были проведены с целью установления влияния циклодекстринов на повышение растворимости цинарозида в воде. В водном растворе цинарозида наблюдался лишь один сильно уширенный пик с максимумом при 344 нм. Было также зафиксировано, что  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД практически не поглощают во всем спектре, следовательно, их поглощающей способностью можно было пренебречь. Следует отметить, что отличительной особенностью спектров комплексов между собой было различие в интенсивности пиков. Так, комплекс цинарозид/ $\gamma$ -ЦД, полученный методом соиспарения, имел наибольшее увеличение интенсивности в своем максимуме абсорбции – в 22,2 раза, соответственно, относительно абсорбции индивидуального цинарозида, растворенного в воде. Таким образом, наблюдаемое увеличение интенсивности поглощения УФ-спектров комплексов цинарозида с  $\gamma$ -ЦД вызвано формированием структур, повышающих растворимость цинарозида. В большинстве случаев при добавлении циклодекстринов в водный раствор исследуемого вещества наблюдаются также изменения в положении спектров поглощения. Спектрофотометрический анализ также показал, что в спектрах комплекса цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД, полученного методом лиофильного высушивания, наблюдается батохромный сдвиг и изменения максимумов поглощения по сравнению с индивидуальным цинарозидом. Такой характер изменения спектра свидетельствует об изменениях в молекуле цинарозида при включении её в полость молекулы 2-ГП- $\beta$ -ЦД.

*ЯМР-спектроскопия.* В комплексе цинарозид/ $\gamma$ -ЦД существенных изменений в химических сдвигах  $\gamma$ -ЦД зафиксировано не было. Отсутствие

химических сдвигов  $^1\text{H}$ -ЯМР спектра для пиков H3 и H5, образующих внутреннюю полость  $\gamma$ -ЦД, указывает на то, что цинарозид не занимает всю полость циклодекстрина. Тем не менее, следует отметить, что в комплексе с  $\gamma$ -ЦД присутствуют  $^1\text{H}$  ЯМР сигналы цинарозида в водном растворе, что чрезвычайно важно, поскольку, как упоминалось выше, присутствие индивидуального цинарозида в водном растворе не зафиксировано. Сигналы цинарозида в комплексе проявлялись как более широкие и интенсивные в характерном для цинарозида диапазоне 6.0–7.4 м.д, что указывает на слипание молекул и характерно для комплексов типа не включения. Условно интеграл по сахарной области был принят за 48 (это один цикл  $\gamma$ -ЦД), что позволило произвести расчет интеграла по цинарозиду, который составил 0.37, то есть один цинарозид приходится на 16 циклов циклодекстрина.

Спектр комплекса цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД показал, что изменений в сахарной части и метильной группе циклодекстрина не наблюдалось. Был зафиксирован спектр цинарозида, который проявился двойным набором сигналов, что свидетельствует о взаимном расположении молекул последнего и явно указывает на его связывание с ЦД. По интегральной интенсивности сигналов цинарозида рассчитано, что один цинарозид приходится примерно на 27 циклов ЦД.

Таким образом, анализируя полученные физико-химическими методами данные, можно заключить, что повышение растворимости цинарозида происходит в результате формирования комплекса включения между цинарозидами и 2-ГП- $\beta$ -ЦД при включении флавоноида в полость циклического олигосахарида (рис. 1).



Рис. 1. Структура комплекса цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД.

Помимо образования комплекса включения, ЦД также могут взаимодействовать с веществами без включения их в полость или образовывать агрегатные комплексы. Повышение растворимости цинарозида в комплексе с  $\gamma$ -ЦД основано не на включении флавоноида в полость циклодекстрина, а на формировании агрегатов (рис. 2). Комплексообразование без включения может являться альтернативным механизмом взаимодействия молекулы «гостя» с циклодекстрином, который может привести к физическому, химическому и фармацевтическому улучшению характеристик соединения.

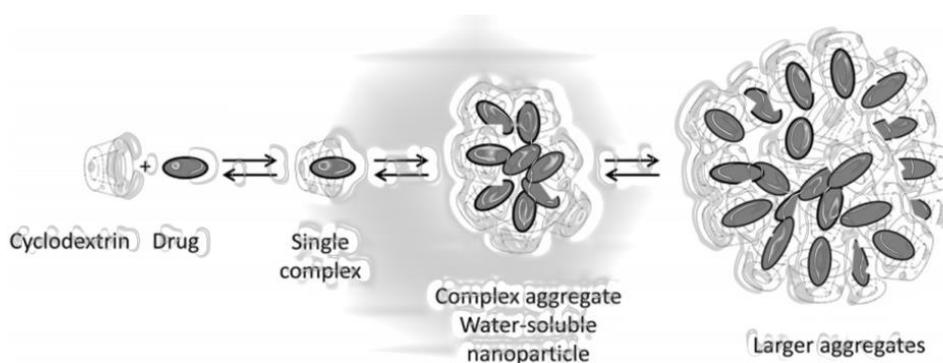


Рис. 2. Структура комплекса цинарозид/γ-ЦД

В последующих экспериментах приняты следующие сокращения, для обозначения комплексов: Цин/γ-ЦД (С) - Цинарозид/γ-ЦД (метод соиспарения); Цин/γ-ЦД (ЛС) - Цинарозид/γ-ЦД (метод лиофильного высушивания); Цин/γ-ЦД (МС) - Цинарозид/γ-ЦД (метод механического смешивания); Цин/2-ГП-β-ЦД (С) - Цинарозид/2-ГП-β-ЦД (метод соиспарения); Цин/2-ГП-β-ЦД (ЛС) - Цинарозид/2-ГП-β-ЦД (метод лиофильного высушивания); Цин/2-ГП-β-ЦД (МС) - Цинарозид/2-ГП-β-ЦД (метод механического смешивания); Цин (ДМСО) - Цинарозид (растворитель ДМСО); Цин (вода) - Цинарозид (растворитель вода).

*Антирадикальная активность цинарозида и его комплексов.*  
 Результаты исследования взаимодействия комплексов со стабильным радикалом ДФПГ, показали, что комплексы в целом обладают более высокой способностью к тушению свободных радикалов, особенно выделяется комплекс цинарозид/γ-ЦД, полученный методом соиспарения (более чем в 20 раз). По отношению к ингибированию NO-радикала наибольшая активность комплексов наблюдалась у цинарозид/γ-ЦД (С) и цинарозид/2-ГП-β-ЦД (ЛС). Исследование содержания МДА показало, что в присутствии комплексов цинарозид/γ-ЦД (С) и цинарозид/2-ГП-β-ЦД (ЛС) наблюдалось значительное ингибирование его уровня. В целом, полученные результаты, подтвердили значительное повышение антиоксидантной и антирадикальной активности полученных комплексов в сравнении с индивидуальным цинарозидом.

*Влияние цинарозида и его комплексов на расслабление аорты.*

При исследовании вазорелаксантного действия цинарозида были использованы два различных по природе растворителя (вода и ДМСО), поскольку биодоступность цинарозида в воде достаточно ограничена, тогда как высокая растворяющая способность ДМСО для флавоноидов известна давно. В широком диапазоне концентраций (до 50 мМ) цинарозид (растворитель ДМСО) не вызывал активации сократительного аппарата препарата аорты крысы, однако проявлял сильный дозозависимый расслабляющий эффект на кольцах аорты, предварительно сокращенных КС1 (50 мМ) – до  $90,1 \pm 6,6\%$ , концентрация  $IC_{50}$  (28,8 мкМ) использовалась в последующих экспериментах.

Влияние комплексов на предсокращенный препарат аорты представлено на рис. 3. Комплексообразование цинарозида с  $\gamma$ -ЦД по методу соиспарения приводило к наиболее эффективному расслаблению аорты – почти в 2 раза, по сравнению с цинарозидом. Следующим по эффективности образцом был зафиксирован образец цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД, полученный методом лиофильного высушивания – эффект релаксации был на 15% выше, чем у образца индивидуального цинарозида.

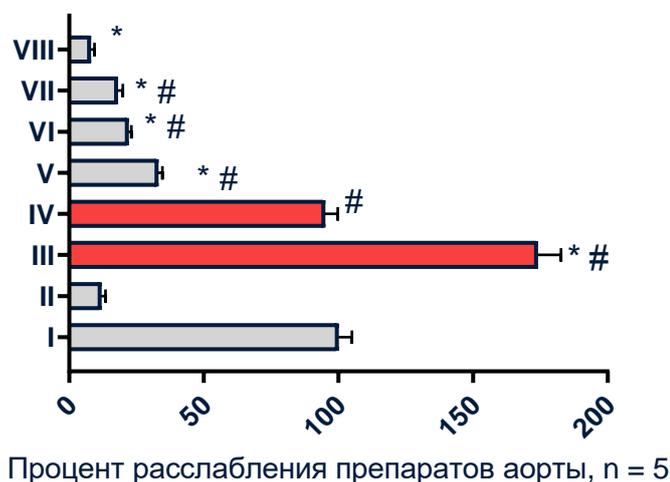


Рис. 3. Вазорелаксанта́нный эффект цинарозида и его ЦД-комплексов на КС1-индуцированное сокращение препаратов аорты крыс (КС1 50 мМ) (*in vitro*). I – Цин (ДМСО); II - Цинарозид (вода); III - Цин/ $\gamma$ -ЦД (С); IV - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС); V - Цин/ $\gamma$ -ЦД (ЛС); VI - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС); VII - Цин/ $\gamma$ -ЦД (МС); VIII - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС). Концентрация 28,8 мкМ в пересчёте на цинарозид. \*- Статистически значимое отличие относительно цин (ДМСО),  $P < 0,01$ . # - Статистически значимое отличие относительно цин (вода),  $P < 0,01$ .

Известно, что КС1-индуцируемое сокращение гладко-мышечных клеток (ГМК) аорты связано с активацией потенциал-зависимых кальциевых каналов ( $\text{Ca}^{2+}$ -каналов). Кумулятивное добавление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  сопровождалось развитием сократительных ответов. Добавление комплексов снижало сократительную активность аорты, наиболее высокую эффективность проявили комплекс цинарозид/ $\gamma$ -ЦД, полученный методом соиспарения и комплекс цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД, полученный методом лиофильного высушивания, вызвавшие до 80% расслабления аорты на фоне ионов кальция (рис. 4), что подтверждает важную роль ионов внеклеточного кальция в реализации релаксанта́нного действия комплексов и предполагает взаимодействие комплексов с потенциал-зависимыми кальциевыми каналами плазматических мембран гладко-мышечных клеток.

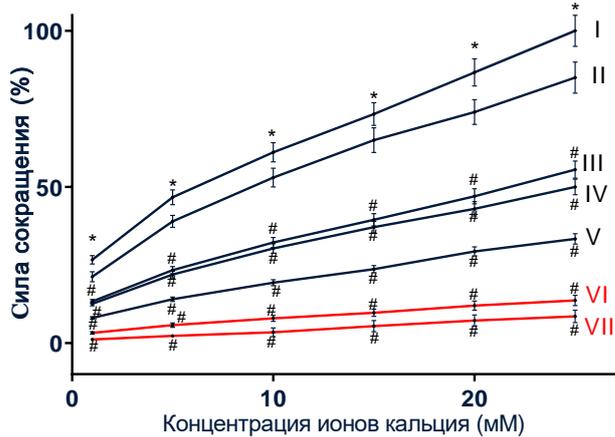


Рис. 4. Кривая зависимости расслабления аорты, предсокращенной КС1 (50мМ) в присутствии ионов кальция в среде (n=4-5). I – CaCl<sub>2</sub> (контроль); II – Цин (вода); III – Цин/γ-ЦД (ЛС); IV – Цин/2-ГП-β-ЦД (С); V – Цин (ДМСО); VI – Цин/2-ГП-β-ЦД (ЛС); VII – Цин/γ-ЦД (С). n – количество повторов. \* – Статистически значимое отличие относительно контроля при уровне доверительной вероятности P < 0,05.

Для подтверждения данного предположения в дальнейшей серии экспериментов было обнаружено, что релаксантное действие флавоноида цинарозида заметно подавлялось верапамилом (0,1 мкМ) – специфическим блокатором Ca<sup>2+</sup>L–каналов: верапамил уменьшал КС1-индуцированную сократительную реакцию аорты до 50,3 ± 4,5%. Преинкубация аорты с цинарозидом уменьшала сократительный ответ на 18,6 ± 4,9%. Добавление образца цинарозид/γ-ЦД к препарату аорты, на фоне эффекта верапамила приводило к дополнительно расслаблению препаратов аорты – почти на 80% по сравнению с контролем. Образец цинарозид/2-ГП-β-ЦД (метод лиофильного высушивания) также показал высокое вазорелаксантное действие (рис. 5).

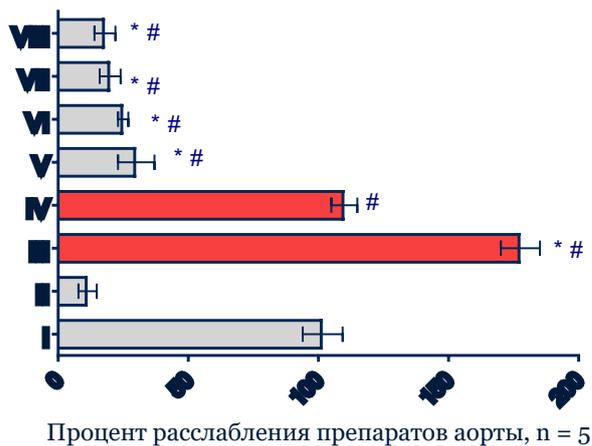


Рис. 5. Вазорелаксантный эффект цинарозида и его ЦД-комплексов на КС1-индуцированное сокращение препаратов аорты крыс (КС1 50 мМ) в присутствии верапамила (специфический блокатор кальциевых каналов) (*in vitro*). I – Цин (ДМСО); II – Цинарозид (вода); III – Цин/γ-ЦД (С); IV – Цин/2-ГП-β-ЦД (ЛС); V – Цин/γ-ЦД (ЛС); VI – Цин/2-ГП-β-ЦД (МС); VII – Цин/γ-ЦД (МС); VIII – Цин/2-ГП-β-ЦД (МС). Концентрация 28,8 мкМ в пересчёте на цинарозид. \* – Статистически значимое отличие относительно цин (ДМСО), P < 0,01. # – Статистически значимое отличие относительно цин (вода), P < 0,01.

Таким образом, способность комплексов дополнительно расслаблять препараты аорты на фоне эффекта верапамила с одной стороны подтверждает, что в основе релаксантного действия лежит блокирование комплексами потенциал-зависимых кальциевых каналов, с другой стороны предполагает взаимодействие и с рецептор–управляемыми кальциевыми каналами.

Данное предположение было подтверждено исследованием релаксантного действия комплексов на препараты, предсокращенные фенилэфрином. В данных условиях комплексы проявляют значительное релаксантное действие, что особенно выражено (почти в 20 раз) у комплекса цинарозид/ $\gamma$ -ЦД, полученном методом соиспарения и почти в 10 раз у комплекса цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (рис. 6). Таким образом, показано, что вазорелаксантное действие комплексов также опосредовано их блокированием рецептор-управляемых кальциевых каналов.

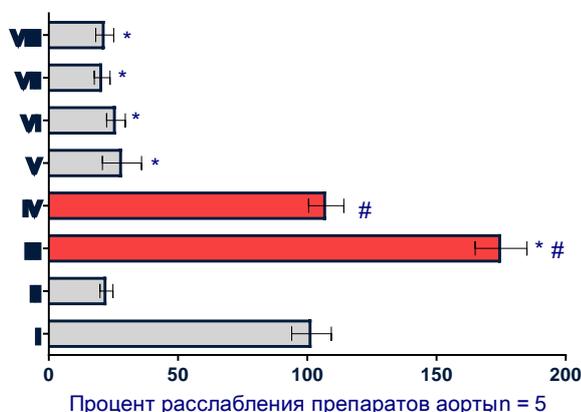


Рис. 6. Вазорелаксантный эффект цинарозида и его ЦД-комплексов на фенилэфрин-индуцированное сокращение препаратов аорты крыс (ФЭ 1  $\mu$ M) (*in vitro*). I – Цин (ДМСО); II - Цинарозид (вода); III - Цин/ $\gamma$ -ЦД (С); IV - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС); V - Цин/ $\gamma$ -ЦД (ЛС); VI - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС); VII - Цин/ $\gamma$ -ЦД (МС); VIII - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС). Концентрация 28,8 мкМ в пересчёте на цинарозид. \* - Статистически значимое отличие относительно цин (ДМСО),  $P < 0,01$ . # - Статистически значимое отличие относительно цин (вода),  $P < 0,01$ .

Известно, что релаксирующее действие соединений при деполяризации мембраны фенилэфрином опосредовано также АТФ-чувствительными калиевыми каналами, активация которых играет существенную роль в защите миокарда при гипоксии и ишемии. В наших экспериментах было обнаружено, что комплексы значительной степени (почти в 20 и в 10 раз выше) активирует АТФ-зависимый калиевый канал (рис. 7).

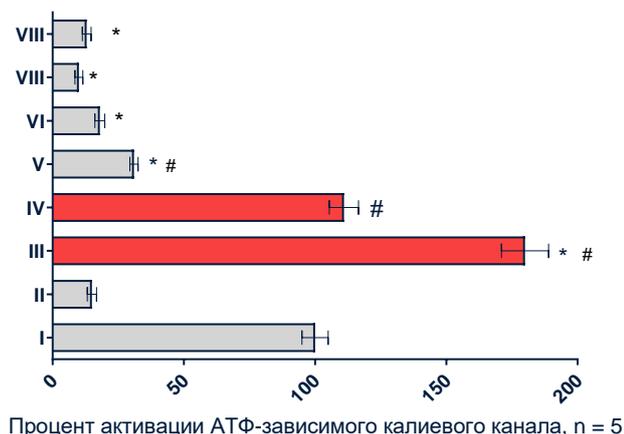


Рис. 7. Влияние цинарозида и его ЦД-комплексов на активность АТФ-зависимого калиевого канала (*in vitro*). I – Цин (ДМСО); II - Цинарозид (вода); III - Цин/ $\gamma$ -ЦД (С); IV - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС); V - Цин/ $\gamma$ -ЦД (ЛС); VI - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС); VII - Цин/ $\gamma$ -ЦД (МС); VIII - Цин/2-ГП- $\beta$ -ЦД (МС). Концентрация 28,8 мкМ в пересчёте на цинарозид. \* - Статистически значимое отличие относительно цин (ДМСО),  $P < 0,01$ . # - Статистически значимое отличие относительно цин (вода),  $P < 0,01$ .

Учитывая полученные данные, показано, что механизмы релаксантного эффекта комплексов цинарозида обусловлены подавлением поступления  $Ca^{2+}$  в цитозоле ГМК, в результате блокирования как потенциал, так и рецептор-зависимых кальциевых каналов, а также активацией АТФ-зависимого калиевого канала.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Флавоноид цинарозид образует комплексы включения с  $\gamma$ -ЦД по типу агрегатов, с 2-ГП- $\beta$ -ЦД - по типу «гость-хозяин». Значения констант стабильности указывают на высокую стабильность комплексов включения. Высокие отрицательные значения изменений свободной энергии Гиббса ( $\Delta G < 0$ ) и энтальпии ( $\Delta H < 0$ ) и положительные значения изменения энтропии ( $\Delta S > 0$ ) в процессе комплексообразования свидетельствуют о спонтанном и экзотермическом характере процесса. Включение цинарозида в супрамолекулярный комплекс с циклодекстринами повышает его антиоксидантный и антирадикальный потенциал. По сравнению с индивидуальным цинарозидом ЦД-комплексы цинарозида более эффективно расслабляют пред-сокращенные препараты аорты крыс, действуя на потенциал-зависимые и рецептор-зависимые каналы сарколеммы, а также активируют АТФ-зависимый кальциевый канал.

## ВЫВОДЫ

1. Возможность использования циклодекстринов для получения комплексов с цинарозидом обоснована рассчитанными теоретическими данными значений константы устойчивости (K).

2. Методом профилей фазовой растворимости подтверждена эффективность использования ЦД для повышения растворимости цинарозида.

3. Установлено, что повышение растворимости цинарозида обусловлено формированием комплексов с  $\gamma$ -ЦД и 2-ГП- $\beta$ -ЦД, полученных методами соиспарения, лиофильного высушивания и механического смешивания, в частности образец цинарозид/ $\gamma$ -ЦД (С) представляет собой комплекс невключения типа агрегатов, образец цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД (ЛС) представляет собой комплекс включения.

4. Определено, что ЦД-комплексы цинарозида ингибировали образование радикаловДФПГ и NO эффективнее, чем индивидуальный цинарозид, также комплексы цинарозида с ЦД более эффективно ингибировали перекисное окисление липидов мембран при моделировании окислительного повреждения на изолированных митохондриях печени крыс (*in vitro*).

5. Определено, что вазорелаксантное действие в среднем почти в 15 раз выше в комплексе цинарозид/ $\gamma$ -ЦД и в 10 раз выше в комплексе цинарозид/2-ГП- $\beta$ -ЦД по сравнению с индивидуальным цинарозидом ( $P < 0,05$ ). Механизм действия опосредован взаимодействием с потенциал-зависимыми, рецептор-управляемыми и АТФ-зависимым калиевым каналом (*in vitro*).

6. Повышение растворимости цинарозида в комплексе с циклодекстринами обосновывают перспективность для разработки новых форм лекарственных препаратов.



**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES  
DSc.02.30.12.2019K/B/T.37.01 AT THE INSTITUTE OF BIOORGANIC  
CHEMISTRY**

---

**INSTITUTE OF BIOORGANIC CHEMISTRY**

**GAYIBOVA SABINA NARIMANOVNA**

**STUDY OF THE STRUCTURE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF  
WATER-SOLUBLE COMPLEXES OF CYNAROSIDE WITH  
CYCLODEXTRINS**

**02.00.10 – Bioorganic chemistry**

**DISSERTATION ABSTRACT  
FOR THE PHILOSOPHY DOKTOR (PhD) ON BIOLOGICAL SCIENCES**

**Tashkent – 2021**

**The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration number B2020.2.PhD/B473.**

The dissertation has been prepared at the Institute of Bioorganic Chemistry.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council [www.ibb.nuu.uz](http://www.ibb.nuu.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal ([www.ziynet.uz](http://www.ziynet.uz)).

**Scientific supervisor:**

**Aripov Takhir Fatikhovich**  
doctor of biological sciences, academician

**Official opponents:**

**Oshepkova Julia Igorevna**  
doctor of chemical sciences, senior scientific researcher

**Tagayalieva Nigora Abdunabievna**  
PhD (biological sciences), senior scientific researcher

**Leading organization:**

**Microbiology Institute**

The defense of the dissertation will take place on «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 year \_\_\_\_ at the meeting of Scientific council DSc.02/30.12.2019.K/B/T.37.01 of scientific degrees at the Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of Uzbekistan at the following Address: 100143, Tashkent city, 83 Mirzo Ulugbek district, Mirzo Ulugbek Str., 83. Phone: (+99871) 262-35-49.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre at the Institute of Bioorganic Chemistry (Address: 100143, Tashkent city, 83 Mirzo Ulugbek district, Mirzo Ulugbek Str., 83. Phone: (+99871) 262-35-49).

The abstract of the dissertation is distributed on «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021  
(Protocol at the register \_\_\_\_ dated «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021)

**Sh.I.Salikhov**

Chairman of scientific degrees awarding  
Scientific council, D.B.Sc., academician

**Sh.A.Shomurotov**

Acting Scientific secretary of scientific degrees  
awarding scientific council, D.Ch.Sc.

**M.B.Gafurov**

Chairman of the seminar of scientific degrees  
awarding scientific council, D.Ch.Sc.

## INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

**The aim of the research work** was the comparative effect of the type of cyclodextrin and methods of the complexes on the biological activity of cynaroside and the structure of the obtained complexes.

**The object of the research work** were cynaroside,  $\gamma$ -cyclodextrin, 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin, cynaroside/ $\gamma$ -cyclodextrin and cynaroside/2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin complexes (obtained by coevaporation and freeze-drying as well as mechanical mixture), rat aortic ring model, rat liver mitochondria, mitoKATP-channel, lipid peroxidation.

**The scientific novelty of the research** is as follows:

in the presence of  $\gamma$ -CD the phase profile of solubility of cynaroside corresponds to the B-type, and in the presence of 2-HP- $\beta$ -CD the phase profile of solubility of cynaroside corresponds to the A<sub>L</sub>-type;

an increase of cynaroside water solubility in the presence of both  $\gamma$ -CD and 2-HP- $\beta$ -CD was found;

the formation of cynaroside/ $\gamma$ -CD and cynaroside/2-HP- $\beta$ -CD complexes obtained by coevaporation, lyophilic drying, as well as a physical mixture was proved;

a significant relaxing effect by complexes in comparison with the individual cynaroside was shown, the liver mitoKATP-channel activation was found to be in a greater extent than the individual components;

the increased inhibition by the complexes of the stable radical DPPH, NO radical, lipid peroxidation in mitochondrial membranes, induced by the Fe<sup>2+</sup>/ascorbate system, in comparison with individual components was proved.

**Implementation of the research results:** On the basis of the results on the preparation of complexes of cynaroside with cyclodextrins and screening of biological activity:

the results on the effect of cynaroside and its complexes with cyclodextrins on the contractile activity of rat aorta preparations were used in the project of fundamental research FA-F-6 «Complex description of the mechanisms of modulation of perspective targets of cardiovascular cells» (reference of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No 4/1255- 2770 dated December 10, 2020). The results made it possible to determine that complexes with cyclodextrins exhibit a more pronounced vasorelaxant effect;

the results of improving the neuroprotective properties of cynaroside while increasing the solubility of cynaroside in the supramolecular complex with cyclodextrins were used at the Autonomous University of Barcelona, Spain «Polymer nanocarriers for drug delivery» (letter of support dated November 19, 2020). The results have made possible to study the biological activity of the cynaroside / cyclodextrin complex;

**The structure and volume of the dissertation.** The dissertation consists of four chapters, conclusions and list of publications. Total volume is 105 pages.

**ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ**  
**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ**  
**LIST OF PUBLISHED WORKS**  
**I бўлим (I часть; Part I)**

1. Gayibova S., Ivanišová E., Árvay J., Hrstková M., Slávik M., Petrová J., Hleba L., Tóth T., Kacaniova M., Aripov T. In Vitro Screening of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Medicinal Plants Growing in Slovakia // Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. 2019. 8(6): -P 1281-1289. (Scopus IF 0.5).

2. Gayibova S.N., Omonturdiev S.Z., Syrov V.N., Aripov T.F. Vasorelaxant effect of cynaroside on rat aortic rings // Ўзбекистон биология журнали. 2019 й. Тошкент. №1. -Б. 3-5 (03.00.00 №5).

3. Гайибова С.Н., Омонтурдиев С.З., Сыров В.Н., Арипов Т.Ф. (2019). Изучение параметров комплексообразования цинароизда с циклодекстринами и биодоступности полученных комплексов // Доклады Академии Наук. 2019. Ташкент. №2. - Б. 51-53 (02.00.00 №8).

**II бўлим (II часть; Part II)**

1. С.Н. Гайибова, С.З. Омонтурдиев, В.Н.Сыров, акад. АН РУз Т.Ф. Арипов. Изучение параметров комплексообразования цинарозида с циклодекстринами и биодоступности полученных комплексов. Научно-практическая конференция молодых ученых, посвященная 110-летию академика С.Ю.Юнусова «Актуальные проблемы химии природных соединений», 19 марта, 2019, -С.66.

2. S.Gayibova. Determination of evaluation of cyclodextrins efficiency as solubilizers for cynaroside. Scientific Conference of PhD Students of FAFR, FBFS and FHLE SUA in Nitra with international participation. Proceedings of abstracts. 7th November 2019, Nitra, Slovak Republic, – P. 29.

3. S. Gayibova, S.Omondurdiev, U.Gayibov. Effect of gamma-cyclodextrin- and 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin-complexed cynaroside on aorta relaxation. Scientific Conference of PhD Students of FAFR, FBFS and FHLE SUA in Nitra with international participation. Proceedings of abstracts. 6th November 2018, Nitra, Slovak Republic, – P. 65.

4. Гайибова, С.Н. Получение и изучение комплекса цинарозида с  $\gamma$ -циклодекстрином / Гайибова С.Н., Гайибов У.Г., Изотова Л.Ю., Хусаинов У., Халилов Р.М., Арипов Т.Ф. Сборник тезисов международной научной конференции «Лекарственные препараты на основе природных соединений». 18-20 сентября 2018. Ташкент, Узбекистан. –С. 56.

5. Gayibova S., Omonturdiyev S., Syrov V. Calcium-dependent vasorelaxant effect of cynaroside on isolated rat aortic rings. Scientific Conference of PhD. Students of FAFR and FBFS SUA in Nitra – Proceedings of Abstract SECTION Applied and molecular biology. 10th November, 2016, Nitra, Slovakia. –P. 32.

Автореферат «Ўзбекистон биология журналы» журналыда  
Ўтказилди ва унинг ўзбек, рус ва инглиз тиллар  
и матнлари мос келди