

**AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
BOTANİKA İNSTİTUTU**

Əlyazması hüququnda

ELZA ƏLİXAN QIZI YOLÇUYEVA

***GİKGO BİLOBA* L. EKSTRAKTININ
GENETİK AKTİVLİYİNİN VƏ ANTİMUTAGENEZ
XÜSUSİYYƏTLƏRİNİN QIYMƏTLƏNDİRİLMƏSİ**

24.09.01 - Genetika

Biologiya üzrə fəlsəfə doktoru alimlik dərəcəsi almaq üçün təqdim
olunmuş dissertasiyanın

A V T O R E F E R A T I

BAKİ- 2013

Dissertasiya işi Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası Botanika İnstitutunun Geobotanika şöbəsində və Azərbaycan Tibb Universitetinin Elmi Tədqiqat Mərkəzində yerinə yetirilmişdir.

Elmi rəhbər:

Biologiya elmləri doktoru,
professor **Ağabəyli R.A.**

Rəsmi opponentlər:

Biologiya elmləri doktoru,
professor **E. M. Rəsulov**

Biologiya elmləri doktoru
İ.Ə.Şahmuradov

Aparıcı təşkilat:

Bakı Dövlət Universitetinin
«Genetika və Təkamül
təlimi» kafedrası

Dissertasiyanın müdafiəsi «19 » « 04 » 2013-cü il saat «__» da
AMEA Botanika İnstitutunun D.01.061 Dissertasiya Şurasının
yığıncağında aşağıdakı ünvanda keçiriləcəkdir.

Ünvan: Bakı şəhəri, AZ1073, Badamdar yolu, 40.

Dissertasiya ilə AMEA Botanika İnstitutunun kitabxanasında tanış
olmaq olar.

Dissertasiyanın avtoreferatı «__» «_____» 2013-cü il tarixində
göndərilmişdir.

**D.01.061 Dissertasiya
Şurasının elmi katibi,
b.e.d., professor**

S.C. İBADULLAYEVA

GİRİŞ

Mövzunun aktuallığı: Bitki ehtiyatlarının mobilizasiyasının yeni bir istiqaməti genmühafizəedici xassələrə malik olan maddələrin aşkar edilməsidir. Bu istiqamətdə aparılan tədqiqat işləri bir tərəfdən müxtəlif metabolitlərin genetik sistemin davamlılığında rolunu aşkar etməyə, digər tərəfdən isə genoprotektor və antioksidant xassəli farmakoloji vasitələrin və qida əlavələrinin mənbələrini aşkar etməyə imkan yaradır [Акинъшина, Фонштейн, 1987; Агаев, Бабаев, Касумов, 2006; Агабейли, 2009; 2012]. Müxtəlif ölkələrdə bu istiqamətdə aparılan çoxsaylı tədqiqat işləri nəticəsində genmühafizəedici potensiala malik olan bir sıra preparatlar aşkar edilmişdir. Hazırda genmühafizəedici xassələrə malik olan bitki məhsulları, əsasən, farmakologiya və qida sənayesi sahələrində istifadə olunur [Шапиро, 1990; Дурнев, Середенин, 1993; 1998; Гофман, Музыченко, Энтин, и. др., 2005; Agabeyli, Mirza-zade, 2011].

Genotoksik təsiri olan dərman preparatlarının genmühafizəedici xassəli bitki məhsulları ilə kompleks tətbiqi həmin təsirləri azaldır və hətta tamamilə yox edir [Худoley, 1993; Agabeyli, Gasimova, Alekperov, 2003; Agabeyli, Zeinalova, 1999; Aziza, Hassan and Barakat, 2009]. Hazırda dünyanın bir çox ölkələrində genmühafizəedici xassələrə malik olan preparatlar və onların kompleksləri tətbiq olunur və bu istiqamət təbii ehtiyatlardan davamlı istifadə olunmasının ən səmərəli yolu kimi qiymətləndirilir [Ramel, Alekperov, Ames et al., 1986; Weisburger, 2002; Агабейли, Мамедова, 2006; Агабейли, 2008]. Ətraf mühit ksenobiotiklərinin təsirinin aradan qaldırılmasında bitki biokomplekslərinin xüsusi əhəmiyyəti vardır - onlar universallıq və kənar effektlərin olmaması ilə səciyyəvlənirlər [Agabeyli, Yolchuyeva, 2010; 2011].

Tədqiqatın məqsəd və vəzifələri: Tədqiqatda əsas məqsəd *Ginkgo biloba* L. ekstraktının və ondan hazırlanmış yeni kompozisiyaların genetik aktivliyinin və genmühafizəedici xüsusiyyətlərinin müxtəlif klassik test sistemlərində (bitki, bakteriya və heyvan) öyrənilməsi olmuşdur.

Bu məqsədə nail olmaq üçün aşağıdakı vəzifələr qarşıya qoyulmuşdur.

1. *Ginkgo biloba* bitkisindən alınmış ekstraktın və onun yeni biokomplekslərinin genmühafizəedici aktivliyinin, sitogenetik, genetik və

sitoloji üsüllərdən istifadə etməklə, bitki (*Triticum durum* L., *Vicia faba* L., *Hordeum sativum* L) heyvan (Vistar xəttli ağ siçovullar) və bakteriya (*Escherichia coli* B/r WP₂ trpE⁻ vəhşi tip hüceyrələri) test sistemlərində öyrənilməsi.

2. *Ginkgo biloba* yarpaqlarından alınmış ekstraktın və onun kompozisiyalarının qatılığın geniş diapozonunda spontan surətdə, həmçinin təbii qocalma, kimyəvi mutagen və qamma şüaları ilə induksiya olunmuş mutasiya prosesinə və bitki hüceyrələrin proliferativ aktivliyinə təsirinin öyrənilməsi.

3. *Ginkgo biloba* ekstraktının və onun kompozisiyalarının qatılıqların geniş diapozonunda bitki hüceyrələrinə təsiri zamanı genetik, sitoloji və sitogenetik effektlərin öyrənilməsi və onların bitki test sistemlərində müxtəlif təsir mexanizmlili genotoksikantlara qarşı genmühafizəedici rolunun müqayisəli analiz olunması.

4. Bitki və mikroorqanizm hüceyrələrinə *Ginkgo biloba* yarpaqlarından alınmış ekstraktın və onun kompozisiyalarının antimutagen təsirinin qanuna- uyğunluğunun və mutagenlərlə induksiya olunmuş mutasiya prosesinin modifikasiyasına təsirinin öyrənilməsi.

5. Tədqiq olunan ekstraktların və onların kompozisiyalarının praktiki tətbiq imkanlarının öyrənilməsi.

6. Tibb praktikasında geniş istifadə edilən dərman preparatı olan diklofenakın məməlilərin hüceyrələrində genotoksik xassələrə malik olmasının, onun istifadəsinin genetik risklərinin qiymətləndirilməsi, eyni zamanda *Ginkgo biloba* ekstraktının bu genetik riskin aradan qaldırılması imkanlarının araşdırılması.

İşin elmi yeniliyi: İlk dəfə olaraq *Ginkgo biloba* L. ekstraktı və onun kompozisiyalarının bitki (*Triticum durum*, *Vicia faba*, *Hordeum sativum*), heyvan (Vistar xəttli ağ siçovullar) və mikroorqanizmlərdə (*E. coli*) antimutagen və radioprotektor aktivliyi müəyyən olunmuşdur. Ekstraktın və onun kompozisiyalarının universallığı və yüksək effektivliyi, həmçinin müxtəlif təbiətli və təsir mexanizmlili genotoksikantlarla induksiya olunmuş mutasiya prosesinin eukariotların xromosom aberrasiyalarının tezliyinə təsirlərinin ingibirə edilməsi müəyyən olunmuşdur. Ekstraktın və onun kompozisiyalarının spontan həmçinin qocalma, kimyəvi mutagen və qamma

şüaları ilə induksiya olunan mutasiya proseslərinə antimitagen təsirində test sistemindən və ekstraktın qatılığından asılı müxtəliflik aşkar edilmişdir.

İşin praktiki əhəmiyyəti: İlk dəfə olaraq, *Ginkgo biloba* ekstraktının və onun kompozisiyalarının genmühafizəedici xassələri aşkar olunmuşdur. Yeni genoprotektor xassələrə malik olan *Ginkgo biloba* ekstraktının və onun yeni kompozisiyalarının mühit genotoksikantları və qocalma nəticəsində induksiya olunmuş genetik və funksional zədələnmələrin heyvan, bitki və bakteriya model orqanizmlərində praktiki tətbiq üsulları işlənib hazırlanmışdır. Perspektiv farmakoloji vasitələrin alınması üçün yeni antimitagen və şüa əleyhinə aktivliyə malik olan xammallar aşkar edilmişdir.

Hazırkı işdə istifadə olunan ekstraktlar və maddələr AMEA Botanika İnstitutunun Bitki Ehtiyatları Şöbəsində alınmışdır.

İşin aprobasiyası: Dissertasiya işinin əsas nəticələri AMEA aspirantların illik konfransında (Bakı, 2010) və 9-cu beynəlxalq ISSX konfransında (9th International ISSX Meeting, İstanbul, 2010) məruzə edilmişdir.

Nəşrlər: Dissertasiya işinin nəticələri üzrə 12 elmi iş nəşr olunmuşdur.

Dissertasiyanın quruluşu və həcmi. Dissertasiya işi, Giriş, Ədəbiyyat icmalı (1-ci fəsil), Tədqiqat obyekti və metodikası (2-ci fəsil), nəticələr və onların müzakirəsi üzrə 4 fəsil, Yekun, Nəticələr və istifadə olunan ədəbiyyat siyahısı daxil olmaqla, 130 səhifədən ibarətdir. Ədəbiyyat siyahısına 237 mənbə daxildir ki, onlardan da 201-i xarici dillərdədir. Dissertasiya işində 17 cədvəl və 6 şəkil vardır.

2. TƏDQİQATIN MATERIALI VƏ METODLARI

Genetik qiymətləndirmənin aparılması və yeni bitki mənşəli preparatların antimitagen xüsusiyyətlərinin üzə çıxması üçün tədqiqat materialı kimi bitki (*Triticum durum*, *Vicia faba*, *Hordeum sativum*); bakterial (*E.coli* -nin WP₂ trpE⁻) və heyvan (Vistar xəttli ağ siçovullar) test-sistemlərindən istifadə olunmuşdur.

Tədqiqat metodları:

1. Hüceyrə qeyri-stabilliliyin xromosom aberrasiyaların anafaza-telofaza üsulu ilə qiymətləndirilməsi [Паушева, 1980].
2. Hüceyrə qeyri-stabilliliyin xromosom aberrasiyaların struktur spektrinin analizi.
3. Bitki hüceyrələrin proliferativ aktivliyinin analizi.
4. Bitki cücərtilərində, heyvanların sümük iliği hüceyrələrində aberrant hüceyrələrin induksiya tezliklərinin qiymətləndirilməsi, ümumi tədqiq olunan hüceyrələrdə mutant hüceyrələrin seçilərək faizlə hesablanması. Bu zaman təqribi qiymət $P \leq 0.05$ olmuşdur [Лакин, 1990].
5. Tədqiq olunan preparatlarda Ələkbərova görə antimutagenin effektivlik faktorunun (AEF) hesablanması [Алекперов, 1984].
6. İşdə indikator ştammi olan triptofan-asılı *E.coli* vəhşi tipi B/r WP₂ hüceyrələrində spontan və diklofenak ilə induksiya olunmuş gen mutasiyaların analizi geniş tətbiq olunan ekspress metodu ilə aparılmışdır.

Alınmış nəticələr həm genetik həm də statistik üsullar ilə hesablanmışdır.

Induktorlar:

1. Qeyri-steroid iltihab əleyhinə dərman preparatı diklofenak (DK) - 75mq, 3ml, ampulada əzələ daxili inyeksiya üçün 2,5% məhlul. İstehsal edən OAO «Sintez», Rusiya, Kurgan ş.
2. Təbii şəraitdə əmələ gələn mutasiyalar (spontan).
3. Qamma-şüaları (РУХУНД – 20 000, Co⁶⁰, P=1,9 rad/san, 60 Qr).
4. Kimyəvi ksenobiotiklər: alkiləedici maddələr metilnitrozoquanidin (NQ, 1mM), pH=7 “Serva” firması və sidikcövhəri (MNN, 0.02%) istifadə olunmuşdur.
5. Natrium flor (NaF) - məişətdə, tibbdə və müxtəlif əlvan metalurgiya sahələrində geniş tətbiq olunan promutagen.

Modifikatorlar:

1. *Ginkgo biloba* yarpaqlarından alınmış ekstrakt (Ginkgo Biloba Standardized Extract 120mq), tərkibində-24% ginkgoflavonoqlikosidlər-28,5mq, 6% terpen laktonlar 7mq.
2. *Ginkgo biloba* yarpaqlarından alınmış ekstraktın C və E vitaminlər ilə kompozisiyası (Egb C, E).

3. *Ginkgo biloba* yarpaqlarından alınmış ekstrakt vinposetin ilə kompozisiyası (Ginkgo Biloba Standardized Extract), tərkibində-24% ginkgoflavonoqlikozidlər - (qida əlavəsi) 28,5mq, 6% terpen laktonlar və 5mq vinposetin (*Vinpocetine*). *Vinposetin* (*Vinpocetine*) - beyin qan dövranını tənzim edən dərman preparatıdır.

4. Standartlaşdırılmış preparatla yanaşı təcrübələrdə AMEA-nın Botanika İnstitutunda *Ginkgo biloba* yarpaqlarından alınmış ekstraktdan da istifadə olunmuşdur.

3. TƏDQIQAT İŞİNİN NƏTİCƏLƏRİ MÜZAKİRƏSİ

3.1. *Ginkgo biloba* ekstraktının bitki test- sistemlərində spontan mutasiya prosesinə və hüceyrələrin proliferativ aktivliyinə təsirinin, sitogenetik, sitoloji və antimutagen aktivliyinin öyrənilməsi

Qida əlavəsi Egb və onun kompozisiyasının sitoloji və sitogenetik effektivliyi birillik və ikiillik (cədvəl 1.) *Vicia faba* toxumlarının apikal meristem kökcüklərində öyrənilmişdir. Bu zaman ekstraktın qatılığının geniş diapazonunda (XA) spontan mutabilliyin tezliklərinin səviyyəsi aşağı düşmüşdür, o cümlədən ekstrakt genetik zədələnmə tiplərini üzə çıxaran skrininq sisteminə daxil olduğu müəyyən olmuşdur. Xromosom aberrasiyalarının tezliyi ətraf mühitin mutagen faktorlarının təsirlərinin əsas göstəricisi hesab olunur. *Ginkgo biloba* ekstraktın və onun vinposetinlə kompozisiyasının 0.001-100mq/ml qatılıq diapazonunda birillik və ikiillik *Vicia faba* toxumlarının cücrtilərinin meristem hüceyrələrin xromosomun spontan mutabilliyinin tezliyinə təsiri öyrənilmişdir.

Paralel olaraq *Ginkgo biloba* ekstraktının C, E vitaminləri ilə biokompleksinin 0,001-100mq/ml qatılıqlar diapazonunda *V. faba* bitki test-sisteminə təsiri sitoloji, sitogenetik tədqiqatlarla öyrənilmişdir. Müəyyən olmuşdur ki, Egb ekstraktı və onun kompozisiyalarının təsiri nəticəsində qatılıqların geniş diapazonunda xromosom aberrasiyalarının tezliyinin səviyyəsi kontrola nəzərən aşağı düşmüşdür.

Paralel olaraq Egb ekstraktının onun vinposetinlə kompozisiyasının proliferativ aktivliyə və mitotik aktivliyə təsiri öyrənilmiş və qatılıqın geniş

diapozonunda ekstraktın və onun kompozisiyası mutagen təsir göstərməmiş əksinə mitotik indeks kontrolla müqayisədə təcrübə variantında yüksək olduğu müəyyən olunmuşdur.

Beləliklə təcrübənin bütün variantlarında *Ginkgo biloba* ekstraktının məhlulunda cücərdilmiş toxumlarda ekstrakt toxumların cücərmə tezliyinin sürətini aşağı salmamışdır və ekstraktın müəyyən olunmuş qatılıqlarında toksik təsirlərinin olmadığı sübut olunmuşdur.

Cədvəl 1.

Ginkgo biloba L. ekstraktın və onun vinposetinlə kompozisiyasının 2 illik *Vicia faba* L. toxumların kökcüklərinin meristem hüceyrələrin xromosomun spontan mutabilliyinin tezliyinə təsiri.

Təcrübə variantı	Qatılıq Egb mkq/ml	Öyrənilmiş hüceyrələr	Xromosom aberrasiyaları, %		td	AEF, %
			n	M± m		
O (kontrol)	-	1089	55	5.05±0.66	-	-
Egb+ vinposetin	100	1052	22	2.09±0.44	3.7	58
	10	1125	21	1.86±0.40	4,1	63
	1	1046	22	2.10±0.44	3,7	58
	0,1	1108	29	2.61±0.47	3.0	48
	0,01	1054	28	2.65±0.13	2.9	47
	0,001	1260	33	2.61±0.44	3.0	48

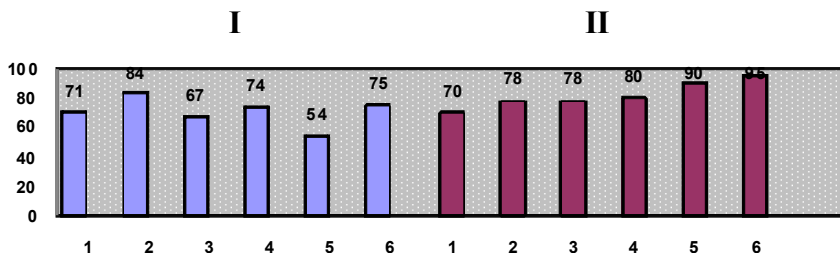
* P<0,001

3.2. *Ginkgo biloba* ekstraktı və onun kompozisiyalarının bitki test-sistemlərində qamma- şüaları ilə induksiya olunmuş xromosom mutabilliyinin modifikasiyası

Qamma – şüaları ilə induksiya olunmuş spontan mutasiyaların tezliyinin Egb vinposetin kompleksi ilə təsirinə bitki test- sistemi hüceyrələrində genetik, sitogenetik aktivliyi öyrənilmişdir. Belə ki, bitki test sistemi hüceyrələrində xromosom aberrasiyalarının, mutasiyaların struktur spektrinin və hüceyrələrin mitotik aktivliyinin analizləri aparılmışdır.

Aparılmış tədqiqatlar nəticəsində *Ginkgo biloba* ekstraktın və onun C, E vitaminləri ilə kompozisiyasının yüksək antimitagen fəallığı şəkil.2; 3-də göstərilmişdir.

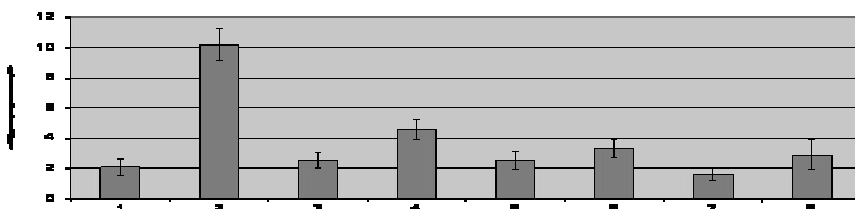
Eyni zamanda, əkilmiş toxumların bütün variantlarında toxumların cücərmə qabiliyyətini, cücərtilərin boyartmalarını, həyatilik qabiliyyətlərinin analizlərində aparılmışdır.



Şəkil. 1. Qamma-şüaları (QŞ) ilə *H. sativum* cücərtilərin meristem hüceyrələrində induksiya olunmuş mutabilliyin modifikasiyasında *Ginkgo biloba* (I) ekstraktının və onun C, E vitaminləri ilə kompozisiyasının (II) antimitagen effektivliyi.

Absis oxunda: (I) *Ginkgo biloba* ekstraktı və onun (II) C, E vitaminləri ilə kompozisiyası qatılıq mqkq/ml: 1(0.001); 2(0.01); 3(0.1); 4(1); 5(10); 6(100);

Ordinat oxunda: antimitagen effektivlik faktoru%



Şəkil 2. *Ginkgo biloba* ekstraktının C, E vitaminləri ilə biokompleksinin qamma- şüaları (QŞ) ilə *H. sativum* cücərtilərin meristem hüceyrələrində induksiya olunmuş xromosom mutabilliyinə təsiri.

Absis oxunda: Egb qatılıq mqkq/ml-kontrol; 2-QŞ; 3(100); 4(10); 5-(1); 6-(0.1); 7-(0.01); 8-(0.001).

Ordinat oxunda: xromosom aberrasiyaları, XA%

Yeni bitki biokompleksin və onun vinposetin ilə kompozisiyasının bitki test-sistemi hüceyrələrinin mitotik aktivliyinə, toxumların cücərmə qabiliyyətinə, xromosom mutabilliyinə və radioprotektor xüsusiyyətinə təsirinin effektivliyinin aşkar edilməsi və bitkilərdə istifadə olunan qatılıqın miqdarından asılı olmadan onların genmühafizə xüsusiyyətlərinin aşkar edilərək qiymətləndirilməsi aparılmışdır.

Qamma-şüaların təsiri ilə induksiya olunmuş xromosom aberrasiyaların struktur spektrinin analizi, onların modifikasiyası və müqayisəli qiymətləndirilməsi zamanı xromosom dəyişilmələrinin spektrində Egb C, E vitaminləri ilə biokompleksində və onun vinposetinə ilə kompozisiyasında qatılıqlardan asılılıq müşahidə edilməmişdir. 0.001-100 mkq/ml qatılıqda istifadə edilmiş *Ginkgo biloba* ekstraktı və onun kompozisiyaları yüksək antimutagen effektivliyinə malik olmuş və qamma-şüaları ilə induksiya olunmuş xromosom aberrasiyalarının tezliyini aşağı salmışdır.

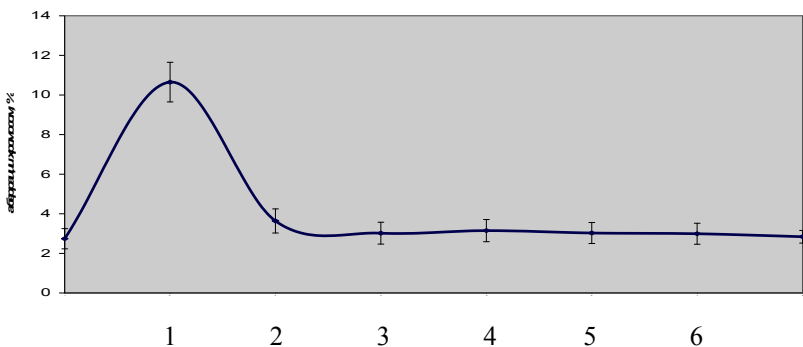
Beləki hər iki təcrübədə Egb ekstraktının kontrol variantla müqayisəsində məlum olmuşdur ki ekstrakt qamma- şüaları ilə induksiya olunmuş xromosom aberrasiyalarının tezliklərini qatılıqların geniş diapazonunda ingibirə etmişdir, o cümlədən *Ginkgo biloba* ekstraktı və onun kompozisiyası AEF (54-95%) yüksək antimutagenlik effekti göstərmişdir. Aparılmış təcrübələr nəticəsində ilk dəfə ekstraktın antimutagen xüsusiyyəti ilə yanaşı radioprotektor aktivliyidə müəyən olmuşdur.

3.3. *Ginkgo biloba* ekstraktı (Egb) və onun kompozisiyalarının bitki test- sistemi hüceyrələrinin kimyəvi mutagenlər ilə induksiya olunmuş mutasiya prosesinə təsiri

Ginkgo biloba ekstraktının (Egb) müxtəlif fiziki - kimyəvi təbii ətraf mühit faktorlarının mutagen təsirlərinə qarşı təsir xüsusiyyətləri *Ginkgo biloba* ekstraktının genmühafizə xüsusiyyətinə əsaslanaraq öyrənilmişdir. Şüa- əleyhinə davamlı bitki kimi tanınan *Ginkgo biloba* ekstraktı eyni zamanda kimyəvi mutagen təsirinə qarşı öyrənilmiş və yüksək davamlılığı, universallığı aşkar olunmuşdur. *V. faba* bitki test-

sistemində aparılmış təcrübələrdə genetik metodlardan istifadə etməklə ana - telofaz metodu ilə xromosom aberrasiyaların (XA) sayı hesablanmış, hər hüceyrədə proliferativ aktivliyin analizi sitoloji metodlardan istifadə etməklə aparılmışdır.

Aparılmış təcrübələr nəticəsində *Ginkgo biloba* ekstraktı yüksək antimutagen aktivlik göstərmişdir və qatılıqların yüksək dozalarında ekstraktın daha yüksək effektivlik göstərməsi şəkil 4-dən görüldüyü kimi ekstraktın yüksək genmühafizə xüsusiyyətinə malik olmasını sübut etmişdir.



Şəkil 3. *Ginkgo biloba* ekstraktının MNNQ ilə *Vicia faba* L. cücərtilərin meristem hüceyrələrində induksiya olunmuş xromosom mutabilliyinə təsiri.

Absis oxunda: qatılıq, mkq/ml: 0-kontrol; 1(MNNQ); 2(MNNQ+E_qb0.001); 3(MNNQ+10); 4(MNNQ+0.1); 5(MNNQ+1); 6(MNNQ+10); 7(MNNQ+100).

Ordinat oxunda: xromosom aberrasiyaları, XA%

3.4. Bitki test-sistemlərində diklofenakın sitoloji və sitogenetik effektləri.

İlk dəfə olaraq *T. durum*, *H. sativum* və *V. faba* klassik bitki test – sistemlərində 250, 25, 2.5mkq/ml qatılıqlarında tibb praktikasında geniş istifadə olunan dərman preparatı diklofenakın sitoloji və sitogenetik effektləri öyrənilmişdir (cədvəl 2). Dissertasiya işində diklofenakın 250, 25, 2.5mkq/ml qatılıqlarının bitki test-sistemlərində toxumların cücərmə qabiliyyətinə, xromosom dəyişilmələrinə, qatılıqlardan və test-

obyektlərindən asılı olaraq mutagen effektləri, sitotoksik, toksik təsirləri müqayisəli analizlərlə öyrənilmişdir. Aparılmış təcrübələrin nəticələrindən məlum olmuşdur ki, bütün test- obyektlərində 250mkq/ml qatılıqda diklofenak toxumların cücərmə qabiliyyətinə letal təsir göstərmiş, test-obyektlərindən asılı olmadan 250mkq/ml qatılıqda letal təsiri diklofenakın toksik təsirə malik olduğunu sübut etmişdir. Eyni zamanda aparılmış tədqiqatlar nəticəsində məlum olmuşdurki, test- sistemlərindən və qatılıqlardan asılı olaraq diklofenakın təsiri müxtəlif olmuşdur. Diklofenakın 25mkq/ml qatılıqda sitotoksik təsir göstərmiş, meristem hüceyrələrin mitotik aktivliyini tamamilə ingibirə etmişdir, arpa cücərtilərində isə kütləvi piknozun və çoxnüvəliliyin əmələ gəlməsinə səbəb olmuşdur (cədvəl 2).

Cədvəl 2.

Diklofenakın *V. faba*, *H. sativum* və *T. durum* merisrematik hüceyrələrində xromosom aberrasiyaların tezliyinə təsiri.

Təcrübə obyektləri	Təcrübə variantları	Qatılıq, mkq/ml	Öyrənilmiş hüceyrələr	Xromoson aberrasiyaları (XA), %		td	Çoxnüvəlilik	
				n	M±m		n	M±m
<i>Vicia faba</i>	Kontrol	-	966	62	6,41±0,79			
	DK	250	-	-	-	-	-	-
		25	Toxumlar cücərməyib	-	-	-	-	-
		2,5	908	157	17,40±1,21	9,6		
<i>Hordeum sativum</i>	Kontrol	-	780	11	1,43±0,42	-	22	11±0,23
	DK	250	Toxumlar cücərməyib	-	-	-	-	-
		25	907	145	15,98±1,21	23,0	469	23,45±0,94
		2,5	568	21	3,69±0,79	2,1	-	-
<i>Triticum durum</i>	Kontrol	-	776	11	1,41±0,42	-	-	-
	DK	250	Toxumlar cücərməyib	-	-	-		-
		25	694	84	12,10±1,23	8,2	-	-
		2,5	533	68	12,83±1,44	7,6	-	-

Beləliklə diklofenakla induksiya olunmuş bitki test- sistemlərinin kökcüklərinin meristem hüceyrələrində mitotik aktivliyin müqayisəli analizi zamanı müəyyən olmuşdur ki, arpa toxumu ilə müqayisədə buğda toxumları daha yüksək davamlılığa malikdir. İlk dəfə olaraq bitki hüceyrələrinə diklofenakın təsiri nəticəsində piknoz və çoxnüvəliliyin əmələ gəlməsi, mutagen, toksik, sitotoksik, mitodepressiv effektləri sübut olunmuşdur.

Tədqiqatın digər istiqaməti *E. coli* WP₂ trpE⁻ vəhşi tip hüceyrələrində diklofenakla induksiya olunmuş mutagenezə *Ginkgo biloba* ekstraktın və vinposetin preparatın təsirlərinin öyrənilməsi olmuşdur.

İlk dəfə olaraq qeyri - steroid dərman preparatı – diklofenak (Na)- ın mutagenliyi *E. coli* WP₂ trpE⁻ vəhşi tip hüceyrələrində aşkar olunmuşdur (cədvəl 3). *Ginkgo Biloba* Standartized Extract və onun vinposetin ilə kompozisiyanın *E.coli* bakteriya WP₂ trpE⁻ ştamminin vəhşi tip hüceyrələri üzərində öyrənilmişdir və antimutagen aktivliyi aşkar olunmuşdur. İlk dəfə olaraq diklofenakın 5; 10; 20mkq/ml qatılıqlarda bakterial *E.coli* test-sistemində təsiri nəticəsində induksiya olunmuş gen mutasiyaların analizi aparılmış və mutagen aktivliyi aşkar edilmişdir.

Beləliklə, diklofenakın ən güclü mutagen təsir göstərmiş dozada tətbiqi fonunda *Ginkgo biloba* ekstraktının antimutagen xüsusiyyəti öyrənilmişdir. Antimutagen xüsusiyyətləri yoxlanılan ekstraktın təcrübə mühitinə mutagen təsirdən əvvəl daxil edilmişdir. Qeyd etmək lazımdır ki, təcrübə mühitinə *Ginkgo biloba* ekstraktı 10,0; 1,0; 0,1 və 0,01mkq/ml dozalarda daxil edilmişdir. Alınmış məlumatlardan aydın olmuşdur ki, *Ginkgo biloba* ekstraktı diklofenakın mutagen təsirini modifikasiya edir. Lakin *Ginkgo biloba* ekstraktın bu xüsusiyyəti istifadə olunan qatılıqdan birbaşa asılıdır. İstifadə edilən qatılıqlardan ekstraktın ən yüksək antimutagen aktivliyi 0,1mkq/ml qatılıqda aşkar olunmuşdur. Bu qatılıqda *Ginkgo biloba* ekstraktı mutasiya tezliyini 298,75±6,1%-dən 127±4,6%-ə qədər aşağı salmışdır və mutagenez effektivliyinin dəyişməsi 2,35 %, antimutagen effektivliyin göstəricisi (AEF) isə 57% olmuşdur. Bu qatılıqdan istənilən kənara çıxma antimutagenez effektivliyinin azalmasına gətirib çıxarmışdır. *Ginkgo biloba* ekstraktın təsiri 1,0 mkq/ml qatılıqda istifadəsi nəticəsində mutasiya tezliyini 298,75±6.1%-dən 183,75±5.3%-ə, 10,0 mkq/ml qatılıqda isə 223,75±5,3% qədər aşağı salmışdır. Bu zaman

mutagenez effektivliyinin dəyişməsi müvafiq olaraq 1,62% və 1,33% AEF isə 38% və 25% olmuşdur. İstifadə edilən qatılıqların içərisində ən aşağı antimutagen effektivliyi 0,01mkq/ml qatılıqda göstərmişdir. Bu qatılıqda *Ginkgo biloba* ekstraktın istifadəsinin təsiri nəticəsində mutasiya tezliyi $264,75 \pm 5.6\%$ azalmışdır və ekstraktın tətbiqi zamanı AEF 11% olmuşdur.

Paralel olaraq Egb ekstraktının vinposetinlə kompozisiyasının təsirləridə öyrənilmişdir. Aparılmış təcrübələrin nəticələri göstərmişdir ki, *Ginkgo biloba* ekstraktı həm ayrılıqda, həm də vinposetin kompleksi ilə birlikdə tətbiqi zamanı diklofenakın mutagenliyinin əmələ gəlməsi və formalaşması prosesini modifikasiya etməklə yüksək antimutagen xüsusiyyəti qatılıqdan asılılığı ilə aşkar olunmuşdur.

Cədvəl 3.

Diklofenakın 5,0; 10,0; 20,0 mkq/ml qatılıqlarında *E. coli* bakterial hüceyrə koloniyaların inkubasiyasının həyatiliyinə təsiri.

№	Kontrol	Diklofenak		
		5,0	10,0	20,0
1	34	91	122	313
2	47	103	131	293
3	36	105	116	288
4	31	97	110	301
Σ	148	396	479	1195
$\bar{X}$	$37 \pm 3,9$	$99 \pm 3,4$	$119,75 \pm 5,1$	$298,75 \pm 6,1$
K	-	2,7	3,2	8,1
T	-	6,54	7,33	10,0
P	-	<0.001	<0.001	<0.001
$Wn * Kw_{95}$	-	$13 * 0,72 = 9,36$	$9 * 0,72 = 8,28$	$33 * 0,72 = 23,76$
$Wn * Kw_{99}$	-	$13 * 1,32 = 17,16$	$9 * 1,32 = 11,28$	$33 * 1,32 = 43,56$
$X + Wn * w_{95}$	-	$-62 + 9,36 = -52,64$	$-82,75 + 8,28 = -74,47$	$-344,5 + 23,76 = -320,71$
$X + Wn * Kw_{99}$	-	$-62 + 17,16 = -4,84$	$-82,75 + 11,88 = -70,87$	$-344,5 + 43,56 = -300,94$

Beləliklə müxtəlif test - sistemlərində yeni bitki ekstraktın və qida əlavəsinin onlardan hazırlanmış yeni kompozisiyanın tədqiq edilməsi mühit ksenobiotiklərin təsirinin qarşısını almaq məqsədilə yeni yüksək effektivli preparatların üzərində təcrübələr aparılmışdır.

3.5. Ətraf mühit genotoksikantları ilə induksiya olunmuş xromosom mutabilliyin heyvan test-sistemlərində *Ginkgo biloba* ekstraktı və onun vinposetin kompozisiyası ilə modifikasiyası.

Ətraf mühit mutagenlərinin içərisində fltorlu birləşmələrin özünə məxsus yeri vardır. Bir tərəfdən onlar diş pastalarında əlavələr kimi geniş istifadə olunurlar digər tərəfdən isə əlvan metalurgiya sənayesində ətraf mühitin əsas çirkləndiricilərindən biri hesab olunurlar. Ftorun bu xüsusiyyətini nəzərə alaraq Egb və onun kompozisiyasının natrium fltorla induksiya olunmuş Vistar xəttli ağ siçovulların sümük iliyində mutasiya prosesinə təsiri öyrənilmişdir.

Təcrübələr zamanı müqayisəli analizlər aparılmışdır. Müəyyən olmuşdurki, *Ginkgo biloba* ekstraktı toksik təsirə malik olmamışdır və xromosom aberrasiyalarının tezliyini ingibirə etmişdir. Natrium fltorla induksiya olunmuş hüceyrələrdə xromosom aberrasiyalarının tezliyi 6.96 ± 0.56 olmuşdur və müəyyən olmuşdur ki, kontrollu müqayisədə xromosom aberrasiyalarının tezliyini artırmış və toksik, mutagen təsir göstərmişdir. Təcrübə mühitinə Egb və onun vinposetinsə kompozisiyası modifikator olaraq daxil edilmişdir. Müqayisəli qiymətləndirmə aparıldıqda müəyyən olmuşdur ki, Egb və onun vinposetinsə kompozisiyaları natrium fltorun mutagen toksik təsirini ingibirə etmişdir o cümlədən *Ginkgo biloba* ekstraktının vinposetinsə kompozisiyası daha yüksək antimutagen effekti göstərmişdir. Təcrübə varinatlarında antimutagenin effektivlik faktorunun qiyməti (AEF%) 52-59% arasında dəyişmişdir.

Beləliklə geniş istifadə edilən – bitki biokompleksi olan *Ginkgo biloba* yarpaqlarından hazırlanmış ekstraktın və onun vinposetin ilə kompozisiyalı qida əlavəsinin təsiri Vistar xəttli ağ siçovul hüceyrələrində ilk dəfə olaraq qatılıqların geniş diapazonunda (0.001-100mq/ml) antimutagen aktivliyi müəyyən edilmişdir.

NƏTİCƏLƏR

1. İlk dəfə olaraq, *Ginkgo biloba* L. polifenol kompleksinin və onun əsasında yaradılmış yeni “C və E vitaminləri – Vinposetin” kompozisiyasının *V. faba* L., *T. durum* L., *H. sativum* L. bitki test sistemlərində antimutagen və radioprotektor aktivliyi aşkar edilmişdir.
2. Şüa əleyhinə davamlı bitki kimi tanınan *Ginkgo biloba* L. ekstraktının digər fiziki və kimyəvi mutagenlərin də təsirinə qarşı yüksək dərəcədə davamlı, universal vasitə olması müxtəlif (mikroorqanizm, bitki və heyvan) test - sistemlərində aşkar edilmişdir.
3. İltihab əleyhinə tibbdə geniş istifadə edilən qeyri-steroid dərman preparatı olan diklofenakın 250, 25 və 2,5 mkq/ml qatılıqlarında *V. faba* L., *T. durum* L., *H. sativum* L. bitki test sistemlərində sitotoksik, mitodepressiv və mutagen aktivliyi, piknoz və çoxnüvəlilik törətmək xüsusiyyəti ilk dəfə aşkar edilmişdir.
4. İlk dəfə olaraq, *E. coli* WP_2 *trpE*⁻ vəhşi tip hüceyrələrində diklofenakın (Na) mutagenliyi aşkar edilmişdir.
5. İlk dəfə olaraq, *E.coli* WP_2 *trpE*⁻ ştamminin vəhşi tip hüceyrələrində *Ginkgo Biloba* standartlaşdırılmış ekstraktının və onun vinposetin ilə kompozisiyanın antimutagen aktivliyi aşkar edilmişdir.
6. İlk dəfə olaraq, *E.coli* WP_2 *trpE*⁻ ştamminin vəhşi tip hüceyrələrində diklofenakın mutagenliyinin *Ginkgo biloba*+*Vinposetin* kompleksi ilə modifikasiyası və antimutagen aktivliyi aşkar olunmuşdur.

TÖVSIYƏ

1. Eksperimental model orqanizmlərdə - mikroorqanizmlər, bitki və heyvan test sistemlərində mühit ksenobiotikləri ilə induksiya olunmuş qocalma və funksional zədələnmənin neytrallaşdırılması və profilaktikası üçün yeni biokomplekslərin, kompozisiyaların qida əlavələri kimi praktiki tətbiq üsulları işlənib hazırlanmışdır. Alınmış nəticələr təbabətdə, qida sənayesində, kənd təsərrüfatında, ətriyyat sənayesində və farmakologiyada istifadə oluna bilər.

2. *Ginkgo biloba* yarpaqlarından alınmış qida əlavəsinin, yeni C, E vitaminləri ilə biokomplekslərin və vinposetin ilə kompozisiyalarının iltihab əleyhinə tibbdə geniş istifadə olunan dərman preparatı diklofenakın, ətraf mühit ksenobiotiklərinin genotoksik təsirlərinin aradan qaldırılması üçün tibbdə müalicə və müalicə-profilaktika məqsədlər ilə istifadə oluna bilər.

DISSERTASIYA MÖVZUSU ÜZRƏ NƏŞR EDİLMİŞ, ELMI İŞLƏRİN SİYAHISI.

1. Агабейли Р.А., Йолчуева Э.А. Цитологические и цитогенетические эффекты диклофенака в растительных тест- системах. //Proceedings of the (MaB UNESCO) «MAN and BIOSPHERE» Azerbaijan National Committee. Ecological Civilization, Sustainable Development Environment. Annual edition. Vol.5, Bakı. 2009. c. 182-191.
2. Yolçuyeva E.Ə. Qamma şüaları ilə induksiya olunmuş xromosom mutabilliyinin *Ginkgo biloba* ekstraktı və vinposetinin kompleksi ilə modifikasiyası //AMEA-nın Aspirantların Elmi Konfransı. Bakı-2010 s.212-215.
3. Agabeyli R.A., Yolchuyeva E. Cytogenetical and cytological effects of the diclofenac in plants test systems //Proceedings of the 9th International ISSX Meeting, Stambul, Turkey -2010, September 4-8, p. 31.
4. Агабейли Р.А., Йолчуева Э.А. Генетические и цитологические эффекты диклофенака в растительных тест-системах //AMEA Botanika İnstitutunun əsərləri, XXX.t. cild 1. Bakı – 2010. c. 203-207.
5. Йолчуева Э. А., Агабейли Р.А. Влияние экстракта *Ginkgo biloba* (EGb) с винпоцетином на спонтанную и индуцированную гамма-лучами мутабельность хромосом в клетках *Vicia faba* L. //Proceedings of the (MaB UNESCO) «MAN and BIOSPHERE» Azerbaijan National Committee. Ecological Civilization, Sustainable Development Environment. Annual edition. Vol.6, Bakı- 2010. s. 159-166.
6. Yolçuyeva E.Ə. Bitki preparatları ilə spontan və induksiya edilmiş mutabilliliyin modifikasiyası //AMEA Botanika İnstitutunun əsərləri XXXI cild, Bakı-2011, s.431-434.
7. Yolçuyeva E.Ə., Şəmmədov R.Z., Ağabəyli R.A. *Escherichia coli* hüceyrələrində diklofenak ilə induksiya olunmuş gen mutasiyaları

- //Proceedings of the (MaB UNESCO) «MAN and BIOSPHERE» Azerbaijan National Committee. Ecological Civilization, Sustainable Development Environment. Annual edition. 2011. Vol.7, Bakı- 2011. p. 165-169.
8. Йолчуева Э. А. Генетические эффекты диклофенака различных тест-системах. //Pedaqoji Universitetin xəbərləri. Bakı- 2011. №4 с.91-95
9. Йолчуева Э.А. Влияние экстракта *Ginkgo biloba* (EGb) с винпоцетином на спонтанную и индуцированную гамма-лучами мутабельность хромосом в клетках *Vicia faba* L. //Pedaqoji Universitetin xəbərləri. Bakı- 2011. №5 с.111-115
10. Агабейли Р.А., Йолчуева Э.А., Шаммедов Р.З. Оценка генетической активности диклофенака в различных тест – системах //Ж. «Доклады НАНА» Bakı-2011. № 4. с.79-87.
11. Yolçuyeva E. Ə., Şəmmədov R.Z. Escherichia coli hüceyrələrində diklofenak ilə induksiya olunmuş mutabilliyin Ginkgo Biloba ekstraktı ilə modifikasiyası. //Naxçıvan Dövlət Universitetinin elmi əsərləri Naxçıvan-2012 s.56-59.
12. Yolchuyeva E. The Genetically effects of the Food Additive from *Ginkgo biloba* L. //ISSN 1512-1887 J. Annals of Agrarian Science 2013 №1

Э.А. Йолчуева

**Оценка генетической активности и антимутагенные свойства
экстракта из *GINKGO BILOBA***

РЕЗЮМЕ

Изучены на различных классических объектах (растения, животные, микроорганизмы) генетическая активность и генозащитные свойства экстрактов, полученных из листьев гинко (*Ginkgo biloba* L.), а также его новых композиций с другими биологически активными соединениями (витамины С, Е, винпоцетин). Исследования были проведены с использованием таких тест-систем, как *Triticum durum* L., *Vicia faba* L., *Hordeum sativum* L. (растительные объекты), лабораторные крысы линии *Vistar* (млекопитающие), клетки *E. Coli* штамм *B/r WP₂ trp⁻* (микроорганизмы). Изучено влияние экстрактов гинко на спонтанную, а также индуцированную химическими (нестероидный противовоспалительный лекарственный препарат диклофенак, нитрозоганидин, нитрозометилмочевина, фторид натрия), физическими (гамма-лучи) и биологическими факторами (естественное старение) нестабильность хромосом и клеточную пролиферацию. В качестве модификаторов индуцированной генетической нестабильности использовали экстракты из листьев гинко с содержанием гинкофлованоидов (24%) и терпеновых лактонов (6%). В опытах использовался экстракт, полученный из листьев гинко в Институте ботаники Национальной Академии наук.

В опытах также исследовался стандартизированный коммерческий экстракт гинко, который содержал также винпоцетин (3,2 %). Исследованиями показали, что экстракты из гинко в исследованных концентрациях не обладают генотоксическими и цитотоксическими свойствами. Было установлено, что экстракты гинко проявляют антимутагенные и радиопротекторные свойства. Эти результаты были получены в экспериментах с использованием в качестве объектов микроорганизмов, растений и животных. Экспериментально было установлено, что изучаемый экстракт и его композиции эффективны как в условиях спонтанного, так и индуцированного старением, физическими и химическими ксенобиотиками. Результаты экспериментов показали, что исследованные экстракты из листьев гинко, а также их композиции с винпоцетином, витаминами С и Е являются практически ценными

потенциальными пищевыми добавками, обладающими генозащитными свойствами.

Yolchuyeva E.A.

**Assessment of the genetically activities and antimutagenic properties
of the extracts from *Ginko biloba***

SUMMARY

The genetically activities and genoprotective properties of the extracts obtained from the leaves of ginkgo (*Ginko biloba* L.), as well as its new compositions with other biologically active compounds (vitamins C, E, vinpocetine) has been studied with mobilization various classical objects (plants, animals, microorganisms). The experiments have been conducted using such test systems as *Triticum durum* L., *Vicia faba* L., *Hordeum sativum* L. (plants objects), Vistar laboratory rats (mammals), and the cells *E. Coli* strain B / r WP2 trp- (microorganisms).

The influence of the extracts on the spontaneous and induced by chemical (pharmacological means, nitrozogonidin, nitrosomethylurea, sodium fluoride), physical (gamma rays) and biological factors (natural aging) instability of chromosomes and cell proliferation have been studied. The extracts from the leaves of Ginkgo containing ginkgoflavonoids (24%) and terpene lactones (6%) have used as modifiers of the induced genetic instability. The extracts have been received from leaves of ginkgo in the Institute of Botany of the National Academy of Sciences. The standardized commercial extract of Ginkgo which also contained vinpocetine (3.2%), also investigated.. Studies have shown that ginkgo extracts of the studied concentrations did not have genotoxic and cytotoxic properties. It was found that extracts of Ginkgo exhibit antimutagenic and radioprotective properties. These results were obtained in experiments with using such different objects as microorganisms, plants and animals. It was established that at the same time the studied extract and his compositions are effective both in terms of spontaneous and induced by aging, physical and chemical xenobiotics mutability. This proves the universality of the genoprotective properties of the studied extracts and compositions.

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АЗЕРБАЙДЖАНА
ИНСТИТУТ БОТАНИКИ**

На правах рукописи

Элза Алихан кызы Йолчуева

**ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И
АНТИМУТАГЕННЫЕ СВОЙСТВА
ЭКСТРАКТА ИЗ *GINKGO BILOBA***

24.09.01 - Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени доктора философии
по биологии

БАКУ-2013