

**ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSC.04/30.12.2019.FAR.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМЙ КЕНГАШ**

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

АЛИМКУЛОВА КОМИЛА ЗОКИРОВНА

**КЎП ТАРКИБЛИ ИММУНОМОДУЛЯТОР ХУСУСИЯТИГА ЭГА
ЎСИМЛИК КОМПОЗИЦИЯСИ ВА УНИНГ АСОСИДАГИ ДОРИ
ВОСИТАСИНИ СТАНДАРТЛАШ**

15.00.02 – фармацевтик кимё ва фармакогнозия

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

Тошкент – 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Content of the abstract of doctor of philosophy dissertation (PhD)

Алимкулова Комила Зокировна

Кўп таркибли иммуномодулятор хусусиятига эга ўсимлик композицияси
ва унинг асосидаги дори воситасини стандартлаш3

Алимкулова Комила Зокировна

Стандартизация многокомпонентной растительной композиции
иммуномодулирующего действия и лекарственного средства
на ее основе21

Alimkulova Komila Zokirovna

Standardization of a multicomponent herbal composition of immunomodulatory
action and a drug based on it.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works.....43

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ
ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSC.04/30.12.2019.FAR.32.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ

ТОШКЕНТ ФАРМАЦЕВТИКА ИНСТИТУТИ

АЛИМКУЛОВА КОМИЛА ЗОКИРОВНА

КЎП ТАРКИБЛИ ИММУНОМОДУЛЯТОР ХУСУСИЯТИГА ЭГА
ЎСИМЛИК КОМПОЗИЦИЯСИ ВА УНИНГ АСОСИДАГИ ДОРИ
ВОСИТАСИНИ СТАНДАРТЛАШ

15.00.02 – фармацевтик кимё ва фармакогнозия

ФАРМАЦЕВТИКА ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ

Тошкент – 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2020.4. PhD/Fag23 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Тошкент фармацевтика институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) илмий кенгаш веб-саҳифаси (www.pharmi.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар: Урманова Флюра Фаридовна
фармацевтика фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар: Тиллаева Гулнора Уринбаевна
техника фанлари доктори, профессор

Ботиров Эркин Хожияқбарович
кимё фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот: ЎзР ССВ ҳузуридаги «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш Давлат маркази» ДУК

Диссертация химояси Тошкент фармацевтика институти ҳузуридаги DSc 04/30.12.2019.Fag 32.01 рақамли илмий кенгашнинг 2021 йил «31» сентябрь сессиясидаги мажлисида бўлиб ўтди (манзил: 100015, Тошкент ш. Миробод тумани, Ойбек кўчаси, 45-уй. Тел.: (99871) 256-37-38; факс: (99871) 256-45-04; e-mail: info@pharmi.uz).

Диссертация билан Тошкент фармацевтика институти Ахборот-ресурс марказида таништириш мумкин (23 рақам билан рўйхатга олинган). Манзил: 100015, Тошкент, Ойбек кўчаси, 45-уй. Тел.: (99871) 256-37-38.

Диссертация автореферати 2021 йил «04» сентябрь куни тарқатилади
(2021 йил «04» сентябрь шғи 24 рақамли реестр қабғиномаси).



К.С. Ритаев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси, ф.д.

Ё.С. Кариева

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий котиби, фарм.ф.д., профессор

Х.Р. Тўхтаев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги илмий семинар раиси муовини, фарм ф д., профессор

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилотининг маълумотларига кўра сўнгги йилларда иммун танқислик ҳолати экологик ва ижтимоий босимнинг тобора кучайиб бориши туфайли организмнинг қаршилиги сезиларли пасайиши, иммунитет ҳимоясининг заифлашишига олиб келмоқда. Шу муносабат билан иммун танқислик ҳолати билан кечадиган патологиялар олдини олиш ва даволаш мақсадида доривор ўсимлик хомашёлари асосида иммуномодулятор ҳусусиятга эга бўлган турли композициялар яратиш, уларнинг кимёвий таркибини аниқлаш ва стандартлаш борасидаги тадқиқотларни амалга ошириш муҳим аҳамият касб этади.

Жаҳонда тиббиёт амалиётида кенг қўлланиладиган доривор ўсимликларни биргаликда қўллаш натижасида улар таркибидаги биологик фаол моддаларнинг ўзаро синергизм таъсири ҳисобига терапевтик фаоллиги янада оширилиб, қўллаш учун қулай дори воситалари ва биологик фаол қўшимчаларни ишлаб чиқиш бўйича кенг кўламда илмий изланишлар олиб борилмоқда. Бу борада кўп таркибли йиғмалар яратиш, уларнинг асосий биологик фаол моддалар гуруҳларини, чинлиги, сифат кўрсаткичларини ва фармакологик ҳоссаларини аниқлаш, улар асосида куруқ экстракт олиш ва стандартлаш ҳамда тиббиёт амалиётига татбиқ этишга алоҳида эътибор берилмоқда.

Республикада маҳаллий хомашёлар асосида яратилган ўсимлик композициялардан дори воситалар ва биологик фаол қўшимчаларни ишлаб чиқиб, аҳолини юқори терапевтик фаолликга эга, хавфсиз, сифатли дори воситалар билан таъминлаш бўйича муайян натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг тўртинчи бобида «...фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминлаш...»¹ юзасидан муҳим вазифалар белгилаб берилган. Бу борада маҳаллий ўсимликларни халқ саломатлиги эҳтиёжлари учун сафарбар этиш, уларни сифат меъёрларини ҳалқаро талабларга мувофиқ белгилаш, ҳамда уйғунлаштириш мақсадида хавфсизлик кўрсаткичларини аниқлаш, сифат таҳлил усулларини валидациялаш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 17 июлдаги ПҚ-3137-сон «Аҳолини дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминлаш тизимини такомиллаштириш бўйича қўшимча чора тадбирлар тўғрисида»ги, 2019 йил 30 декабрдаги ПҚ-4554-сон «Ўзбекистон Республикаси фармацевтика тармоғида ислохотларни чуқурлаштиришга доир қўшимча чора-тадбирлари тўғрисида»ги, 2020 йил 10 апрелдаги ПҚ-4670-сон «Ёввойи ҳолда ўсувчи доривор ўсимликларни муҳофаза қилиш, маданий ҳолда

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги ПФ-4947-сон Фармони

етиштириш, қайта ишлаш ва мавжуд ресурслардан оқилона фойдаланиш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарорлари, Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2018 йил 27 январдаги 63-сон «Ўзбекистон Республикасида қизилмия ва бошқа доривор ўсимликларни етиштириш ҳамда саноат усулида қайта ишлашни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарори ва мазкур соҳага тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Маҳаллий хом ашё асосида иммунотроп дори воситалари ва биологик фаол қўшимчаларини яратиш ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш борасида Н.К.Абубакиров, З.С.Саатов, С.Н.Аминов, У.М.Азизов, Д.Н.Даминов, С.М.Мавлянов, С.И.Искандаров, Н.Ш.Рамазанов, Ё.С.Кариева, Н.Қ.Олимов, Ш.Ф.Искандарова каби ўзбек олимлари изланишлар олиб боришган.

Дунё миқёсида иммун танқислиги ва унинг асоратларини даволашда доривор ўсимликлар асосида олинган дори воситаларини қўллаш бўйича Р.М.Хайтов, С.В.Дутова, А.А.Ярилин, М.С.Савенкова, Л.В.Лусс, Н.И.Ильина, А.В.Богова, Р.И.Атауллаханова, G.S.Bondy, W.Chen, J.J.Pestka, A.Halenius, D.Odloak, E.K.Broberg, W.Zhang, D.Blair, K.Wang, F.Yuan, D.Song, D.Blair, M.M.Harnett, M.M.Harnett, J.Peltonie., A.Halenius, H.S.Goodridge ва бошқаларнинг тадқиқот ишлари маълум.

Ушбу диссертация тадқиқотида қўлланилган доривор ўсимликлар композицияси, унинг кимёвий таркибини ўрганиш, стандартлаш, асосида сифатли дори воситаси ва биологик фаол қўшимчани ишлаб чиқиш бўйича тизимли илмий тадқиқотлар бугунги кунгача олиб борилмаган.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Тошкент фармацевтика институтининг «Маҳаллий доривор ўсимликлар ва координацион бирикмалар асосида оригинал дори воситаларини ишлаб чиқиш ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш» илмий-тадқиқот ишлари режаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади. Янги кўп таркибли иммуномодулятор таъсирли ўсимлик йиғмаси ва унинг асосидаги дори воситасини стандартлаш тизимининг назарий ва экспериментал асослашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

адабиётларни танқидий таҳлили асосида иммун танқислиги касалликларини олдини олиш ва даволаш учун янги ўсимлик дори воситалари ва биологик фаол қўшимчаларни яратиш ва стандартлашнинг мақсадга мувофиқлигини асослаш;

янги кўп таркибли ўсимлик йиғмасини иммуномодулятор фаоллигини таъминловчи асосий биологик фаол моддалар гуруҳларини аниқлаш;

асосий биологик фаол моддаларни идентификация қилиш ва миқдорини аниқлаш усулларини тавсия этиш;

йиғмани стандартлаш учун зарур бўлган чинлик ва сифат кўрсаткичларининг ишончли мезонларини ишлаб чиқиш;

йиғманинг сақлаш мумкин бўлган муддатини экспериментал асослаш;

йиғма асосида ишлаб чиқилган қуруқ экстрактнинг чинлик тавсифи ва сифат кўрсаткичларини аниқлаш;

тадқиқот натижаларини умумлаштириш ва улар асосида тавсия этилаётган ўсимлик воситалар учун меъёрий хужжатлар лойиҳаларини ишлаб чиқиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида маҳаллий доривор ўсимликларнинг хомашёси – тешик далачай, доривор лимонўт ер устки қисми, туксиз қизилмия, пахмоқ қариқиз, доривор қоқи илдизлари, доривор маврак, грек ёнғоғи, икки уйли газанда барглари, доривор мойчечак гуллари, оддий эман пўстлоғи олинган.

Тадқиқотнинг предмети тавсия этилган йиғма (биологик фаол кўшимча), унинг асосидаги дори восита (қуруқ экстракт)ни стандартлаш ва тиббиёт амалиётига татбиқ этиш билан боғлиқ масалаларни ҳал қилишдан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотларни олиб боришда замонавий физик-кимёвий (қоғоз ва юпка қатлам хроматография, УВ- спектроскопия, ГСХ, ГХ, ЮССХ, индуктив-боғланган плазмали масс-спектрометрия, атом-абсорбцион спектроскопия, гамма-спектрометрия) ҳамда анъанавий фармакогностик таҳлил усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

«Флюкам» янги кўп таркибли ўсимлик йиғмасининг асосий биологик фаол моддалар ва уларнинг миқдори аниқланган;

тавсия этилаётган кўп таркибли ўсимлик йиғмаси асосида биологик фаол кўшимча ва қуруқ экстракт дори воситасини стандартлаш усуллари ишлаб чиқилган, чинлиги ва сифатига оид мезонлар аниқланган;

қуруқ экстракт ва биологик фаол кўшимчанинг сифат кўрсаткичлари ҳалқаро стандартлар талабларига мослиги исботланган;

йиғма асосида олинган ўсимлик воситаларининг мўътадил сақлаш муддати ва шароитлари аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

иммуномодулятор таъсирига эга дори воситаси ва биологик фаол кўшимчасини олиш учун «Флюкам» янги кўп таркибли ўсимлик йиғмаси ишлаб чиқилган;

«Флюкам» йиғмаси асосидаги қуруқ экстрактнинг иммунномодуловчи фармакологик фаоллиги ва безарарлиги аниқланган, шунингдек, мазкур дори воситасига меъёрий хужжатлар ишлаб чиқилган;

биологик фаол кўшимчанинг иммунитетни кучайтирувчи махсус фармакологик фаоллиги ва захарсизлиги аниқланиб, меъерий ҳужжатлари тасдиқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Олинган натижаларнинг ишончлилиги даражаси замонавий физик-кимёвий, фармакогностик, фармакологик ва статистик усуллардан, шунингдек, натижаларни статистик ишлашда Вилкоксон-Манн-Уитнинг U-мезони ва Стюдентнинг t-мезони фойдаланганлиги билан изоҳланган.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти «Флюкам» янги кўп таркибли ўсимлик йиғмасини кимёвий таркиби аниқланганлиги ҳамда хомашё – тайёр ўсимлик доривор воситаси қаторидаги сифатини баҳолаш усулларини унификациясини таъминловчи «туташ» стандартлаш усули ишлаб чиқилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти «WORLD FARM BUSINESS» МЧЖ билан ҳамкорликда «Флюкам» биологик фаол кўшимчаси учун Техник шартлари ва уни ишлаб чиқариш бўйича Технологик йўриқнома ишлаб чиқилганлиги ва тасдиқланганлиги билан изоҳланади ҳамда маҳаллий БФҚ лар ассортиментини кенгайтиришга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Кўп таркибли иммуномодулятор хусусиятига эга ўсимлик композицияси ва унинг асосидаги дори воситасини стандартлаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«Флюкам» биологик фаол кўшимча учун Техник шартлар (Ts 27245830-02: 2020) ҳамда уни ишлаб чиқариш бўйича Технологик йўриқнома (ТИ 64-27245830-02:2020) Ўзбекистон Республикаси санитария-эпидемиологик осойишталик ва жамоат саломатлиги хизмати томонидан тасдиқланган. Натижада «WORLD FARM BUSINESS» МЧЖда фильтр-пакет шаклидаги иммунитетни кучайтирувчи биологик фаол кўшимчани ишлаб чиқариш имконини берган;

«Флюкам» куруқ экстракти учун корхона фармакопея мақоласи «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш Давлат маркази» ДУКга рўйхатдан ўтказиш учун тақдим этилган («Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш Давлат маркази» ДУКнинг 2020 йил 25 ноябрдаги 29/01-521-сон хати, Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2018 йил 15 октябрдаги 8н-3/280-сон хати). Натижада ушбу меъерий ҳужжатлар тасдиқланиши иммуномодулятор маҳаллий дори воситалар ассортиментини кенгайтириш имконини беради;

ўтказилган клиник олди синовлар натижасида «Флюкам» куруқ экстрактининг специфик фармакологик фаоллиги исботланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2018 йил 15 октябрдаги 8н-3/280-сон хати). Натижада ишончли иммуномодулятор таъсирли безарар дори воситасини ишлаб чиқариш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 4 та халқаро ва 2 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 14 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг фалсафа доктори (PhD) илмий даражасини олиш учун асосий илмий натижаларни чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 6 та, жумладан 5 таси республика журналларида нашр этилган ва Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлиги томонидан 1 та ихтирога патент олинган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 96 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида танланган мавзунинг долзарблиги ва зарурати асосланган, тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг мақсад ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, тадқиқотнинг усуллари, илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий қилиниши, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Биринчи боб «**Иммун танқислиги. Иммун танқислигини коррекциялаш учун ўсимлик дори воситаларидан фойдаланиш истиқболлари**» деб номланиб унда адабиётлар шарҳи, шу жумладан иммунитет тизими ва иммунитетни тўғрилаш учун ишлатиладиган дори воситалари, иммуномодулятор сифатида ишлатиладиган доривор ўсимликлар ва ўсимлик йиғмаларини стандартлаштиришга замонавий ёндашувлар ҳақида умумий маълумотлар баён этилган.

Иккинчи «**Флюкам**» янги ўсимлик йиғмасининг кимёвий таркибини ўрганиш» деб номланган бобда ўрганилаётган йиғманин асосий биологик фаол моддаларини аниқлаш, идентификация қилиш ва микдорини ўрганиш бўйича маълумотлар келтирилган.

Тадқиқотнинг биринчи босқичида маълум бўлган сифат реакциялар ва хроматографик таҳлил усуллари ёрдамида «Флюкам» йиғмасининг ўзига хос фаоллигини белгилайдиган биологик фаол моддалар мажмуаси аниқланган.

Бирламчи алмашинув моддалар моно- ва полисахаридлар, аминокислоталар, витаминлар, органик кислоталар ва липидлардан иборат эканлиги кўрсатилган. Иккиламчи алмашинув моддаларидан сапонинлар, ошловчи моддалар, флавоноидлар, стероид бирикмалар ва минерал моддалар аниқланган.

Аниқланган моддаларни идентификация қилишда «гувоҳ» намуналар билан хроматографик таққослашдан ташқари (1-жадвал) зарур ҳолларда улар

«Флюкам» йиғмасининг кимёвий таркиби

Аниқланган биологик фаол моддаларнинг гуруҳлари	Идентификация қилинган бирикмалар
Моносахаридлар	Глюкоза, арабиноза, фруктоза, сахароза
Сувда эрийдиган полисахаридлар	Глюкоза, фруктоза, арабиноза (гидролиздан сўнг)
Витаминлар	Аскорбин кислотаси, каротиноидлар (β-каротин)
Органик кислоталар	Лимон, олма, оксалат, янтар, фумар кислоталар
Ошловчи моддалар	Конденсацияланувчи танидлар
Флавоноидлар	Кверцетин, гиперозид, рутин
Сапонинлар	Глицирризин кислотаси
Стероид бирикмалар	β-ситостерин

инструментал физик-кимёвий усуллар ёрдамида ажратиб олинган ва таҳлил қилинган.

Йиғманинг аминокислоталар таркибини ўрганиш. «Флюкам» йиғмасининг аминокислоталар таркиби ва миқдори ЮССХ усулида Shimadzu LC -20 promiens хроматографида аниқланган (2-жадвал).

«Флюкам» йиғмасининг аминокислоталар таркиби

№	Аминокислоталар	Ушланиш вақти, мин	Миқдори, мг/г	Миқдори, %
1.	Треонин*	16,159	0,00896	0,621
2.	Серин	4,392	0,06100	4,225
3.	Цистин	8,503	0,03844	2,663
4.	Метионин*	10,534	0,03604	2,497
5.	Изолейцин*	13,291	0,04046	2,803
6.	Цистеин кислота	9,278	0,00806	0,558
7.	Аспарагин кислота	1,667	0,08184	5,669
8.	Аспарагин	1,304	0,02662	1,844
9.	Лейцин*	11,864	0,00868	0,601
10.	Глутамин	2,015	0,12896	8,933
11.	Глицин	7,836	0,03472	2,405
12.	Аланин	6,339	0,00356	0,247
13.	Валин*	9,613	0,06188	4,286
14.	Глутамин кислота	3,117	0,39016	27,027
15.	Фенилаланин*	12,227	0,04038	2,797
16.	Тирозин	5,695	0,02674	1,852
17.	Лизин*	14,251	0,02604	1,804
18.	Гистидин*	4,902	0,05456	3,779
19.	Аргинин*	7,201	0,36652	25,389
Жами			1,44362	100
Изоҳ: * алмашинмайдиган аминокислоталар				

2-жадвалда кўрсатилган маълумотлардан кўриниб турибдики, аминокислоталарнинг ўзига хос тўплами 19 таркибий қисмни ўз ичига олади, улардан 9 таси алмашинмайдиган аминокислоталардир.

Адабиётлардан олинган маълумотларга кўра ўрганилаётган аминокислоталар аралашмасининг биологик қимматлигининг кўрсаткичларидан бири, бу алмашинмайдиган аминокислоталар йиғиндисининг 45-50 % бўлишидир. Бинобарин, ўрганилаётган йиғма учун алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори 45,0% ташкил қилади.

Шу билан бир қаторда, аминокислоталар таркибида миқдор жиҳатдан глутамин кислота (27,0%) ва аргининнинг (25,0%) устунлиги аниқланди. Дарҳақиқат, глутамин кислота организмдаги иммунофаол оксиллар ташкил қиладиган Т-лимфоцитларни ишлаб чиқишини ҳамда ўзига хос антитаналарни ишлаб чиқарилишини тезлаштирадиган иммунофаол аминокислоталар қаторига киради. Шунини инобатга олган ҳолда, аминокислоталар – “Флюкам” йиғманинг асосий таъсир этувчи моддалари билан бир қаторда унинг мажмуавий иммуномодулятор таъсирида иштирок этади деб хулоса чиқариш мумкин.

Липидларни ўрганиши. Умумий липидлар заррача катталиги 2 мм гача бўлган йиғмани хлороформ - метанол аралашмаси билан (2:1, v/v) уч мартга экстракция қилиш йўли билан ажратиб олинди. Кейин экстракт липид бўлмаган таркибий қисмлардан кальций хлориднинг 0,05% сувли эритмаси билан ювилди. Умумий липидларнинг миқдори (УЛ) 0,92% ни ташкил этди.

УЛ таркибини аниқлаш учун уларни силикагелли колонкада хроматография қилиб кетма-кет хлороформ, ацетон ва метанол билан элюирлаш йўли билан нейтрал липидлар (НЛ), гликолипидлар (ГЛ) ва фосфолипидларга (ФЛ) ажратилди.

Ушбу гуруҳларнинг ҳар бирини ишқорий гидролизидан сўнг ҳосил бўлган ёғ кислоталар диазометан ёрдамида метил эфирларига ўтказилди ва ГСХ усулида Agilent 6880N хроматографида таҳлил қилинди.

3 - жадвалда тақдим этилган маълумотлардан кўриниб турибдики, НЛ да идентификация қилинган 14 та ёғ кислоталарнинг 46,21% тўйинган ва бироз кўпроқ, 53,79% тўйинмаган ёғ кислоталар ташкил қилади. Тўйинмаган ёғ кислоталарининг 40% омега-6-тўйинмаган линол ва линолен кислоталарга тўғри келади. Ушбу кислоталар ҳужайралар ҳимоя функцияларини оширишни ва тизимли яллиғланиш реакциясини пасайишини, инфекция асоратларини ривожланиши камайтиришини, шунингдек иммуносупрессияга чалинган касалларни даволаш вақтини камайтиришини ўз ичига олган иммунли жавобни чақиради.

Элементар таркибини ўрганиши. Индуктив боғланган плазмали масс-спектрометрия усулида «Флюкам» йиғма таркибида 36 та минерал элемент, шу жумладан биологик фаоллиги бўйича организмнинг ҳаёт фаолиятига ижобий таъсир қилувчи фосфор, темир, марганец, рух, кальций, хром, магний, молибден ва мис каби элементлар мавжудлиги аниқланди (4-жадвал).

«Флюкам» йиғмаси липидларининг ёғ кислоталар таркиби, % Σ

№	Тривиал номи	Систематик номи (IUPAC)	Умумий формула	НЛ	ГЛ	ФЛ
1.	Лаурин кислота	Додекан	C _{12:0}	0,49	-	-
2.	Миристин кислота	Тетрадекан	C _{14:0}	1,69	3,88	6,16
3.	Пентадецил кислота	Пентадекан	C _{15:0}	1,27	2,55	2,84
4.	Пальмитин кислота	Гексадекан	C _{16:0}	32,84	50,25	62,7
5.	Пальмитолеин кислота	цис-9-гексадецен	C _{16:1ω7}	2,52	7,24	1,69
6.	Маргарин кислота	Гептадекан	C _{17:0}	-	-	1,93
7.	Стеарин кислота	Октадекан	C _{18:0}	6,04	8,25	14,05
8.	Олеин кислота	цис-9-октадецен	C _{18:1ω9}	11,35	5,94	3,64
9.	Линол кислота	цис,цис-9,12-октадекатриен	C _{18:2ω6}	13,58	6,61	3,24
10.	Линолен кислота	цис,цис,цис-9,12,15-октадекатриеновая	C _{18:3ω3}	26,34	15,28	2,05
11.	Арахин кислота	Эйкозан	C _{20:0}	0,96	-	-
12.	Генейкоцил кислота	Хенейкозан	C _{21:0}	0,55	-	-
13.	Беген кислота	Докозан	C _{22:0}	0,77	-	1,70
14.	Трикоцил кислота	Трикозан	C _{23:0}	0,74	-	-
15.	Лигноцерин кислота	Тетракозан	C _{24:0}	0,86	-	-
Σ Тўйинган ёғ кислоталар				46,21	64,93	89,38
Σ Тўйинманган ёғ кислоталар				53,79	35,07	10,62

«Флюкам» йиғмасининг элементлар таркиби

Элемент	Микдори, мг/кг	Элемент	Микдори, мг/кг
Li	1,30	Zn	6,30
Be	0,008	Ga	0,01
B	3,30	Ge	0,002
Na	382,00	As	0,71
Mg	3,10	Se	0,68
Al	1,90	Br	0,002
P	702,00	Rb	0,001
K	23,00	Sr	103,10
Ca	16,00	Y	0,34
Sc	0,07	Zr	1,20
Ti	29,60	Nb	0,24
V	5,50	Mo	2,00
Cr	6,00	Ag	0,05
Mn	24,00	Cd	0,02
Fe	130,0	Ba	1,41
Co	0,41	Au	0,001
Ni	1,28	Hg	0,032
Cu	0,77	Pb	0,004

Мазкур элементлар «Флюкам» йиғмаси таркибидаги асосий биологик фаол моддалари билан бирга маълум даражада ушбу ўсимлик воситасининг фармакологик қийматининг ошишини таъминлайди.

Йиғманинг биологик фаол моддаларининг кимёвий табиати ва таркиби аниқлангандан сўнг уларнинг микдорлари ўрганилди.

Таҳлил натижалари 5-жадвалда умумлаштирилган.

Клиник олди фармакологик текширувларда «Флюкам» йиғмаси организмга ноҳўя таъсир кўрсатмаган ҳамда токсик бўлмаган ҳолда иммуномодулятор таъсирга эга эканлиги аниқланди.

«Флюкам» йиғмасининг тиббиёт амалиётига жорий этиш учун уни стандартлаш билан боғлиқ тадқиқотлар ўтказилди. Йиғманинг стандартлаш бўйича услубий ёндашувлар ва экспериментал маълумотлар диссертациянинг «Флюкам» ўсимлик йиғмасини стандартлаш» деб номланган учинчи бобида акс эттирилган.

Йиғманинг чинлиги унинг ташқи ва анатомик – диагностик белгиларини ўрганиш, асосий таъсир этувчи моддаларига сифат реакция ўтказиш билан аниқланди.

Йиғманинг ташқи кўриниши лупа остида ўрганилганда унинг алоҳида қисмлари ўзига хос морфологик белгилари бўйича аниқланди.

Йиғманинг микроскопик таҳлилида унинг таркибий қисмларига хос диагностик аҳамиятга эга бўлган анатомик белгилари тўлиқ намоён этилди.

«Флюкам» йиғмаси таркибидаги биологик фаол моддаларнинг миқдори

Биологик фаол моддалар	Миқдори, % курук маҳсулотга нисбатан
Углеводлар:	
-моносахаридлар	2,26±0,05
-сувда эрувчи полисахаридлар	4,12±0,1
Аминокислоталар	0,144±0,01
Липидлар	0,92±0,06
Витаминлар:	
-аскорбин кислотаси, мг%	100±1,23
-каротиноидлар, мг%	17,7±0,5
Органик кислоталар	0,9±0,03
Флавоноидлар	0,53±0,01
Ошловчи моддалар	18,4±0,3
Глицирризин кислотаси	0,34±0,01

«Флюкам» йиғмасининг ўзига ҳос биологик фаоллиги унинг таркибидаги ошловчи моддалар ва глицирризин кислота билан боғлиқ эканлигини ҳисобга олган ҳолда айни шу табиий бирикмалар унинг кимёвий стандартлаш жараёнида чинлиги ва сифатлигини белгиловчи асосий меъзонлар сифатида қабул қилинган.

Жумладан, йиғма таркибидаги ошловчи моддаларни аниқлаш учун темир-аммоний аччиктош эритмаси билан рангли реакцияси, глицирризин кислотасини аниқлаш учун эса кўзғалувчи фаза хлороформ-сирка кислота (1:1) аралашмаси ёрдамида сорбентнинг юпка қатламларида таксимланиш хроматография усули ва УБ - нурида детекторлаш орқали аниқлаш тавсия этилди.

Йиғма таркибидаги ошловчи моддалар миқдори официнал перманганометрик усул ёрдамида аниқланди. «Флюкам» йиғмасининг бешта намунасида ошловчи моддаларнинг миқдори аниқлаш натижалари асосида уларнинг меъёрини 17,0% кам бўлмаслиги белгиланди (6-жадвал).

6 – жадвал

«Флюкам» йиғма таркибидаги ошловчи моддалар миқдорини аниқлаш усулининг метрологик тавсифлари

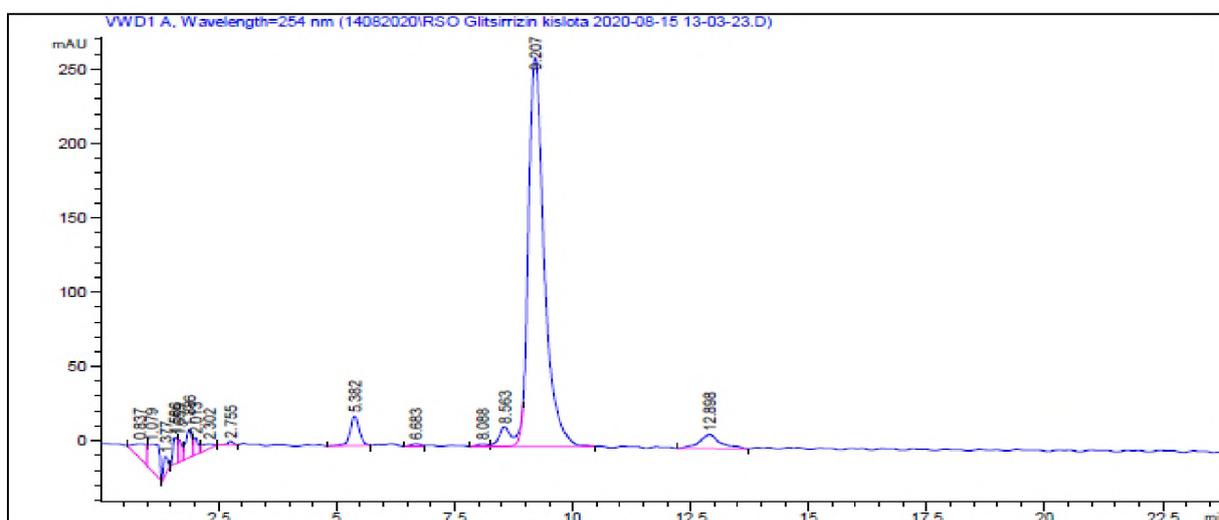
X	X _{ўр}	n	S	S _x	f	p	t	ΔX	ΔX _{ўр}	ΔE	ΔE _{ўр}
18,51	18,40	5	0,2581	0,1154	4	0,05	2,776	0,7165	0,3204	3,8935	1,7412
18,48											
18,44											
18,63											
17,96											

Бунга параллел равишда, йиғмадаги ошловчи моддаларнинг миқдори муқобил спектрофотометрик усул ёрдамида аниқланди. Таҳлил натижаларда деярли фарқ бўлмади.

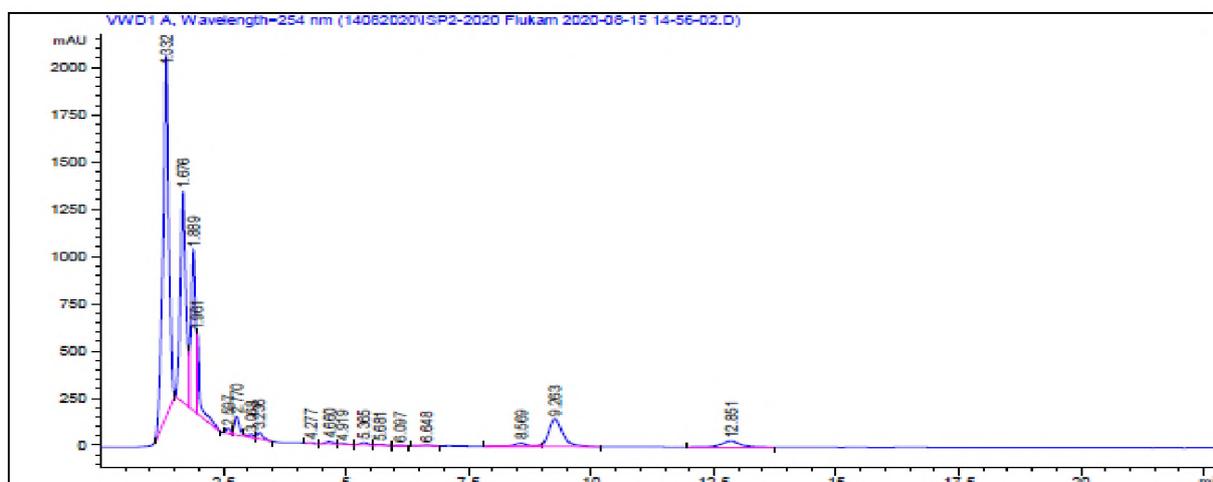
Йиғма таркибидаги глицирризин кислотаси миқдори ЮССХ усули ёрдамида «LC-20 prominence» («Shimadzu Corporation») хроматографида аниқланди.

Хроматография шартлари: 3,0x150 мм, 4,6 мм, ZORBAX SBC18 колонка, ҳаракатланувчи фазани шундай танланадики унда оқим тезлиги 3,85 г аммоний ацетат 720 мл сувда эритилиб, 5 мл сирка кислотаси (конц.) ва 280 мл ацетонитрил кўшилганда глицирризин кислотасининг ушланиш вақти тахминан 10 дақиқани ташкил этиши керак; детектрлаш 254 нм тўлқин узунлигида амалга оширилди; колонка ҳарорати - 25 ° С; таҳлил вақти - 15 дақиқа.

Таҳлил натижалари 1, 2 расм ва 7-жадвалда келтирилган.



1-расм. Глицирризин кислотаси стандарт намуна эритмасининг хроматограммаси



2-расм. «Флюкам» йиғмасининг текширилувчи эритма хроматограммаси

«Флюкам» йиғмаси таркибидаги глицирризин кислотаси миқдорини аниқлаш усулининг метрологик тавсифлари

X	X _{ўр}	n	S	S _x	f	p	t	ΔX	ΔX _{ўр}	ΔE	ΔE _{ўр}
0,345	0,34	5	0,0064	0,0029	4	0,05	2,776	0,01803	0,01	5,3543	2,3945
0,329											
0,337											
0,341											
0,332											

Олинган натижаларга асосланиб, йиғма таркибидаги глицирризин кислотасини меъёри 0,3% кам бўлмаслиги белгиланган.

Тадқиқот натижасида «Флюкам» йиғмаси учун глицирризин кислотасини миқдорини аниқлаш ЮССХ усулининг ўзига хослик, чизиқлилиқ, тўғрилиқ ва аниқлилиқ меъзонлари бўйича валидация қилинди. Натижада ишлаб чиқилган усул яроқли эканлиги ҳамда мазкур йиғмани сифатини назорат қилишга имкон бериши аниқланди.

Йиғманинг сифатини белгиловчи бошқа кўрсаткичлар маълум бўлган фармакопея усуллари ёрдамида аниқланди.

Олинган маълумотларга асосланиб, «Флюкам» йиғмасининг сифатини меъёрлаштирувчи сонли кўрсаткичларнинг мезонлари белгиланган (8-жадвал).

«Флюкам» йиғмасининг сифатини меъёрлаштирувчи сонли кўрсаткичлари

Кўрсаткичлар номи	Йиғма учун меъёр
Ошловчи моддалар миқдори,%, кам эмас	17,0
Глицирризин кислотаси миқдори, %, кам эмас	0,3
Намлиқ, %, кўп эмас	8,0
Умумий кул, %, кўп эмас	11,0
Хлорид кислотасининг 10% эритмасида эримайдиган кул, %, кўп эмас	3,0
Тешиклар диаметри 7 мм бўлган элакдан ўтмайдиган заррачалар, %, кўп эмас	5,0
Тешиклар ўлчами 0,25 мм бўлган элакдан ўтайдиган заррачалар, %, кўп эмас	3,0
Органик аралашмалар, %, кўп эмас	2,0
Минерал аралашмалар, %, кўп эмас	1,0

Шунингдек, «Флюкам» йиғмаси ўсимлик хомашёларининг микробиологик тозалигига қўйилган талабларга тўлиқ жавоб бериши кўрсатилди.

Флюкам йиғмани табиий шароитда сақлаш жараёнидаги турфунлигини ўрганиш унинг ташқи белгилари ва сонли кўрсаткичлари 2,5 йил давомида деярли ўзгармаганлиги кўрсатди. Шунинг учун мазкур йиғмани тайёрлашдан бошлаб 2 йил давомида қўллаш тавсия этилди.

Турли давлатларнинг меъёрий хужжатларига киритилган доривор ўсимликлар воситаларининг сифати ва тадқиқот усулларига қўйиладиган талабларни уйғунлаштиришнинг замонавий анаъналарни ҳисобга олган ҳолда, таклиф этилаётган йиғманинг сифати ва хавфсизлигини меъёрлаштирувчи кўрсаткичлар қаторида хавфли контаминантлар - токсик оғир металллар, радионуклидлар ва пестицидларнинг қолдиқ миқдорини аниқланди. Тадқиқот натижалари йиғманинг экологик тозаллиги ва қўллашда хавфсизлиги тўғрисида хулоса чиқаришга имкон берди.

Шундай қилиб, олиб борилган тадқиқотлар натижасида иммуномодулятор таъсирли дори воситаси ва биологик фаол қўшимчани яратиш учун тавсия этилган «Флюкам» янги кўп таркибли ўсимлик йиғмасининг сифат кўрсаткичларига қўйиладиган талаблар даражасини асослаш учун керакли маълумотлар олинди.

«Флюкам» кўп таркибли композициясининг дозаланган шакли иммунитетни ҳимояловчи биологик фаол қўшимча сифатида таклиф қилинди. Ушбу БФҚ ни фильтр-пакетларда чиқарилиши мўлжалланганлиги муносабати билан хомашёдан экстрактив ва таъсир этувчи моддалар тўла ажралиб чиқишини таъминлайдиган майдаланганлик даражаси (2 мм), фильтр-пакетларда хомашёни дамланишининг мақбул вақти (15 минут), шунингдек, хомашё ва эритувчи (сув)ни ўзаро мақбул нисбати (1:100-1:50 оралиғида) ҳамда яроқлилиги муддати (2 йил) аниқланди.

Олинган маълумотлар асосида «WORLD FARM BUSINESS» МЧЖ билан биргаликда йиғма асосидаги «Флюкам» биологик фаол қўшимча учун Техник шартлар (Ts 27245830-02:2020) ва уни ишлаб чиқариш бўйича Технологик йўриқнома (ТИ 64-27245830-02:2020) ишлаб чиқилди ва тасдиқланди.

ЎзР ССВ дан «Флюкам» биологик фаол қўшимчасини ишлаб чиқариш ва қўллаш учун 2021 йил 26 июлда рухсат (№ 000984) олинган. Мазкур биологик фаол қўшимчани саноат миқёсида ишлаб чиқаришга «WORLD FARM BUSINESS» МЧЖ нинг розилиги олинган.

Диссертациянинг тўртинчи **«Флюкам» куруқ экстрактини стандартлаш** бобида «Флюкам» йиғманинг куруқ экстрактини стандартлаш билан боғлиқ амалий масалаларнинг ечими тақдим этилган.

Клиникагача бўлган фармакологик текширувлар кўрсатиши бўйича, «Флюкам» йиғмасидан олинган куруқ экстракт деярли захарли бўлмаган ва организмга ножўя таъсир кўрсатмаган ҳолда иммуномодулятор таъсирига эга. Хусусан, преднизолон иммуносупрессия моделида иммуномодулятор фаоллиги бўйича «Флюкам» куруқ экстракти хорижий аналоглардан - «Иммунал» («Лек дд», Словения) ва «Виусид» (Catalysis, Испания) препаратларидан қолишмаслиги ва баъзи ҳолларда ҳатто улардан ҳам ортиғлиги аниқланди.

Шу билан бирга, таклиф этилаётган дори воситаси фақатгина иммун тизимининг заифлашган жойларига таъсир қилиб яхшиланиши, унинг соғлом

жойларига таъсир этмаслиги аниқланди, бу эса уни узок вақт давомида иммун тизимига салбий таъсир кўрсатмасдан қабул қилиш имкони беради.

Дори воситаси учун Ўзбекистон Республикаси Интеллектуал мулк агентлигининг IAP 05583 «Яллиғланишга қарши иммуномодулятор ўсимлик дори воситаси» патенти олинган.

«Флюкам» курук экстрактини стандартлаш, худди йиғмани стандартлаш каби ошловчи моддалар ва глицирризин кислотаси бўйича олиб борилган, яъни хомашё - тайёр ўсимлик дори воситаси қаторидаги кўрсатмалар, меъёрлар, ва сифатни баҳолаш усуллари унификациясини таъминловчи ягона «туташ» стандартлаш усулидан фойдаланилди. Шунингдек, «Флюкам» курук экстрактининг сифат кўрсаткичлари фармакопея талабларига мос келиши кўрсатилган (9-жадвал).

9-жадвал

«Флюкам» курук экстрактнинг спецификацияси

Кўрсаткичлар	МХ талаби	Характеристика	МХ га мувофиқлиги
Ташқи кўриниши	Ўзига хос ҳидли, ширин-аччиқ таъмли аморф кўнғир кукун	Ўзига хос ҳидли, ширин-аччиқ таъмли аморф кўнғир кукун	Мувофиқ
Эритманинг ташқи кўриниши	Ўзига хос ҳидли, ширин-аччиқ таъмли жирарранг эритма	Ўзига хос ҳидли, ширин-аччиқ таъмли жирарранг эритма	Мувофиқ
Эриш вақти	3.0 дақиқадан кўп эмас	2.5 дақиқа	Мувофиқ
Чинлиги			
А. Глицирризин кислотаси	Текширилувчи модда чўққисининг ушланиш вақти тегишли ишчи стандарт чўққисининг ушланиш вақтига мос келиши керак	Текширилувчи модда чўққисининг ушланиш вақти тегишли ишчи стандарт чўққисининг ушланиш вақтига мос келди	Мувофиқ
Б. Ошловчи моддалар	Темир хлорид эритмаси билан қора-яшил ранг ҳосил бўлади	Темир хлорид эритмаси билан қора-яшил ранг ҳосил бўлди	Мувофиқ
Намлик	5,0% дан кўп эмас	4,26 %	Мувофиқ
Эритманинг рН	4,5-7,8	6,13	Мувофиқ
Эритманинг зичлиги	1,010-1,040 г/см ³	1,014 г/см ³	Мувофиқ
Сульфат кули	0,1% дан кўп эмас	0,07%	Мувофиқ
Асосий таъсир этувчи моддалар миқдори:			
-глицирризин кислотаси	1.5% дан кам эмас	2,02%	Мувофиқ
-ошловчи моддалар	45.0% дан кам эмас	50,04%	Мувофиқ
Микробиологик тозаллиги	Аэроб бактериялар умумий сони (1 г намунда) - 10 ⁵ кўп	50 КОЕ/г;	Мувофиқ

	эмас Ачитки ва моғор замбуруғлари умумий сони (1 г намунада) – 10 ⁴ кўп эмас Enterobacteriaceae гуруҳи (Escherichia coli ва Salmonella), Pseudomonas aeroginosa ва Staphylococcus aureus – мавжуд бўлмаслиги керак	200 КОЕ/г; Мавжуд эмас	Мувофик Мувофик
--	--	-------------------------------	------------------------

«Флюкам» куруқ экстракти «Виусид» дори воситасига қиёс қилиб, ичиш учун эритма тайёрлашга дозаланган 2.0 г кукун сифатида ишлаб чиқаришга тавсия этилди.

Олинган маълумотларга асосланиб, «SHARQ DARMON» МЧЖ билан биргаликда «Флюкам» куруқ экстракти учун корхонанинг Фармакопоя мақоласи (КФМ) лойиҳаси ишлаб чиқилган ва Соғлиқни сақлаш вазирлиги ҳузуридаги Фармацевтика тармоғини ривожлантириш агентлиги «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш давлат маркази» ДУК га тиббиёт амалиётида қўллаш учун рухсат олишга тақдим этилган» (2020 йил 25-ноябрдаги 29/01-52-сонли хат).

«Флюкам» куруқ экстракти саноат миқёсида ишлаб чиқариш учун «SHARQ DARMON» МЧЖ нинг розилиги олинди.

Шундай қилиб, олиб борилган тадқиқотлар натижасида тиббиёт амалиёти учун иммуномодулятор таъсирга эга «Флюкам» янги кўп таркибли ўсимлик йиғмаси асосида «Флюкам» биологик фаол кўшимча ҳамда шу номдаги куруқ экстракти тавсия этилди. Ушбу ўсимлик воситаларини ишлаб чиқариш импорт ўрнини босиш ва маҳаллий хомашёдан фойдаланиш ҳисобига Республиканинг экспорт салоҳиятини кенгайтиради, шунингдек, аҳолини самарали ва арзон ҳаётий зарур дори воситалари билан таъминлаш бўйича давлатнинг муҳим ижтимоий вазифасини ҳал қилади.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк бор янги кўп таркибли «Флюкам» ўсимлик йиғмасини стандартлаштириш тизими назарий ва экспериментал асосланган ҳолда тақлиф этилган.

2. Йиғма таркибидаги унинг иммуномодулятор фаоллигини белгиловчи биологик фаол моддалар мажмуаси моно- ва полисахаридлар, аминокислоталар, каротиноидлар, органик кислоталар, танинлар, флавоноидлар, сапонинлар, стероид бирикмалар ва минерал моддалардан иборат эканлиги аниқланиб, йиғманинг биологик фаол моддаларнинг асосий гуруҳлари таркиби ва миқдори белгиланган.

3. Тавсия этилган ўсимлик йиғмасининг асосий таъсир этувчи моддаларининг – танидлар ва глицирризин кислотасини сифат ва миқдорини

аниқлаш усуллари ишлаб чиқилди, йиғманинг чинлиги ва сифат кўрсаткичлари тавсифлари ҳамда мўътадил сақлаш муддатлари экспериментал асослаб, белгиланди.

4. Кўп таркибли йиғма асосида «Флюкам» куруқ экстракт ва биологик фаол кўшимчани яратиш ва стандартлаштиришнинг амалий жихатлари ҳал этилди.

5. «Флюкам» куруқ экстракти учун корхона фармакопея мақоласи лойиҳаси ишлаб чиқилди ва Соғлиқни сақлаш вазирлиги ҳузуридаги Фармацевтика тармоғини ривожлантириш агентлиги «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш давлат маркази» ДУК га тиббиёт амалиётида қўллаш учун рухсат олишга тақдим этилди.

6. «Флюкам» биологик фаол кўшимча учун Техник шартлар ва уни ишлаб чиқариш учун Технологик йўриқнома ишлаб чиқилди ва тасдиқланди. ЎзР ССВ дан ушбу биологик фаол кўшимчасини ишлаб чиқариш ва қўллаш учун рухсат олинган.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSC.04/30.12.2019 FAR.32.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ТАШКЕНТСКОМ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ**

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

АЛИМКУЛОВА КОМИЛА ЗОКИРОВНА

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ МНОГОКОМПОНЕНТНОЙ РАСТИТЕЛЬНОЙ
КОМПОЗИЦИИ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ И
ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ЕЕ ОСНОВЕ**

15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

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

Ташкент – 2021

Тема диссертации доктора философии (PhD) по фармацевтическим наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2020.4.PhD/Far23.

Диссертация выполнена в Ташкентском фармацевтическом институте.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице научного совета (www.pharm.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель:	Урманова Флюра Фаридовна доктор фармацевтических наук, профессор
Официальные оппоненты:	Тиллаева Гулнора Уринбаевна доктор технических наук, профессор Ботиров Эркин Хожиакбарович доктор химических наук, профессор
Ведущая организация:	ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» при МЗ РУз

Защита диссертации состоится «29» сентября 2021 г. в 13:00 часов на заседании научного совета DSc.04/30.12.2019.Far.32.01 при Ташкентском фармацевтическом институте (адрес: 100015, г. Ташкент, Мирабадский район, ул. Айбека, 45. Тел.: (98872) 256-37-38; факс (99871) 256-45-04, e-mail: info@pharm.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Ташкентского фармацевтического института (регистрационный номер 27) по адресу: 100015, г. Ташкент, Мирабадский район, ул. Айбека, 45. Тел.: (98872) 256-37-38.

Автореферат диссертации разослан «04» сентября 2021 года (реестр протокола рассылки № 27 от «04» сентября 2021 г.)



К.С. Ризаев
Председатель научного совета по присуждению ученых степеней, д.м.н.

Ё.С. Кариева
Ученый секретарь научного совета по присуждению ученых степеней, д.фарм.н., профессор

Х.Р. Тухтаев
Зам председателя научного семинара при научном совете по присуждению ученых степеней, д.фарм.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. По данным Всемирной организации здравоохранения, в последние годы вследствие все возрастающего эколого-социального прессинга отмечается существенное снижение резистентности организма, приводящее к ослаблению иммунной защиты. В условиях, когда практически любое заболевание сопровождается развитием иммунодефицитных состояний, исследования по созданию композиций иммуномодулирующего действия на основе местного растительного сырья приобретают особо важное значение.

В мировой медицинской практике проводятся широкомасштабные исследования по разработке удобных в применении лекарственных средств и биологически активных добавок на основе комплексного использования лекарственных растений с высокой терапевтической активностью за счет синергизма содержащихся в них биологически активных веществ. В этой связи созданию многокомпонентных сборов, определению основных групп биологически активных веществ, показателей подлинности, доброкачественности и фармакологических свойств, получению и стандартизации сухих экстрактов на их основе, а также внедрению их в медицинскую практику уделяется особое внимание.

В республике достигнуты определенные результаты по разработке лекарственных средств и биологически активных добавок из растительных композиций на основе местного сырья, обеспечению населения безопасными, эффективными лекарственными средствами, обладающими высокой терапевтической активностью. В четвертой главе Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены важные задачи по «... по дальнейшему развитию фармацевтической промышленности, обеспечению населения и медицинских учреждений дешевыми, качественными лекарственными средствами и медицинскими изделиями...»¹. В этой связи мобилизация местных растений для нужд здравоохранения, установление норм качества и гармонизация их в соответствии с международными требованиями, определение показателей безопасности, валидация методик оценки качества имеют важное значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Постановлениями Президента Республики Узбекистан ПП-3137 от 17 июля 2017 года «О дополнительных мерах по совершенствованию системы обеспечения населения лекарственными средствами и изделиями медицинского назначения», ПП-4554 от 30 декабря 2019 года «О дополнительных мерах по углублению реформ в фармацевтической отрасли Республики Узбекистан», ПП-4670 от 10 апреля 2020 года «О мерах по охране, культурному выращиванию, переработке дикорастущих лекарственных растений и рациональному использованию

¹ Указ Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан».

имеющихся ресурсов», Постановлением Кабинета Министров Республики Узбекистан №63 от 27 января 2018 года «О мерах по дальнейшему развитию производства и промышленной переработке солодки и других лекарственных растений в Республике Узбекистан», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям 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. В настоящее время широко известны работы в области создания и внедрения в медицинскую практику иммуностропных препаратов и биологически активных добавок на основе местного растительного сырья таких отечественных ученых, как Н.К.Абубакиров, З.С.Саатов, С.Н.Аминов, У.М.Азизов, Д.Н.Даминов, С.М.Мавлянов, С.Искандаров, Н.Ш.Рамазанов, Ё.С.Кариева, Н.К.Олимов, Ш.Ф.Искандарова.

В мировом масштабе известны исследования по использованию лекарственных растительных средств для лечения иммунодефицитных состояний и их осложнений, проводимые Р.М.Хаитовым, С.В.Дутовой, А.А.Ярилиным, М.С.Савинковой, Л.В.Лусс, Н.И.Ильиной, А.В.Боговой, Р.И.Атауллахановой, G.S.Bondy, W.Chen, J.J.Pestka, A.Halenius, D.Odloak, E.K.Broberg, W.Zhang, D.Blair, K.Wang, F.Yuan, D.Song, D.Blair, M.M.Harnett, M.M.Harnett, J.Peltonie., A.Halenius, H.S.Goodridge и другими.

До настоящего времени не проводилось систематических исследований композиции лекарственных растений, использованной в данной диссертационной работе, изучению ее химического состава, стандартизации и созданию эффективных лекарственных средств и биологически активных добавок на ее основе.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Ташкентского фармацевтического института «Разработка и внедрение в медицинскую практику оригинальных лекарственных средств на основе местных лекарственных растений и координационных соединений».

Цель исследования. Теоретическое и экспериментальное обоснование системы стандартизации нового многокомпонентного растительного сбора иммуномодулирующего действия и лекарственного средства на его основе.

Задачи исследования:

на основании критического анализа литературы обосновать целесообразность создания и стандартизации новых лекарственных растительных средств и биологически активных добавок для профилактики и лечения иммунодефицитных заболеваний;

изучить химический состав новой многокомпонентной растительной

композиции (сбора) иммуномодулирующего действия с целью выявления основных групп биологически активных веществ;

предложить методики идентификации и количественного определения основных действующих веществ;

разработать надежные критерии подлинности и доброкачественности сбора;

экспериментально обосновать допустимые сроки хранения сбора;

определить характеристики подлинности и показатели качества разработанного на основе сбора сухого экстракта;

обобщить результаты исследования и на их основе разработать проекты нормативных документов на предлагаемые растительные средства.

В качестве объекта исследования использовано сырье местных лекарственных растений - трава зверобоя обыкновенного, Melissa лекарственной, корни солодки голой, одуванчика лекарственного, лопуха войлочного, листья шалфея лекарственного, ореха грецкого, крапивы двудомной, цветки ромашки аптечной, кора дуба обыкновенного.

Предметом исследования было решение вопросов, связанных со стандартизацией и внедрением в медицинскую практику предлагаемого сбора (биологически активной добавки) и лекарственного средства (сухого экстракта) на его основе.

Методы исследования. При выполнении работы использованы современные физико-химические (хроматография на бумаге и в тонком слое сорбента, УФ-спектроскопия, ГЖХ, ГХ, ВЭЖХ, масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой, атомно- абсорбционная спектроскопия, гамма-спектрометрия), а также традиционные методы фармакогностического анализа.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

определены состав и количественное содержание основных групп биологически активных веществ нового многокомпонентного сбора, условно названного нами «Флюкам»;

разработаны методы стандартизации сухого экстракта и биологически активной добавки на основе предлагаемого сбора, определены критерии их подлинности и доброкачественности;

доказано соответствие показателей качества сухого экстракта и биологически активной добавки требованиями международных стандартов;

определены оптимальные сроки хранения растительных средств, полученных на основе сбора.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

разработан новый многокомпонентный растительный сбор «Флюкам» для получения лекарственного средства (сухого экстракта) и биологически активной добавки иммуномодулирующего действия;

определены иммуномодулирующая фармакологическая активность и безопасность сухого экстракта на основе сбора «Флюкам», разработаны также нормативные документы на данное лекарственное средство;

определена специфическая иммуностимулирующая активность и безопасность биологически активной добавки «Флюкам», утверждены нормативные документы.

Достоверность результатов исследования. Степень достоверности полученных результатов определяется использованием современных физико-химических, фармакогностических, фармакологических и статистических методов анализа с использованием U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни и t-критерия Стьюдента, позволяющих получить воспроизводимые и однозначные результаты.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования заключается в определении химического состава нового многокомпонентного растительного сбора «Флюкам» и разработке его научно обоснованной системы «сквозной» стандартизации, обеспечивающей унификацию методов оценки качества в ряду: сырье – готовое лекарственное растительное средство.

Практическая значимость результатов исследования состоит в том, что совместно с ООО «WORLD FARM BUSINESS» разработаны и утверждены Технические условия на биологически активную добавку «Флюкам» и Технологическая инструкция по ее производству, что послужит расширению ассортимента местных БАД.

Внедрение результатов исследования. На основании научных результатов, полученных при стандартизации новой многокомпонентной растительной композиции и лекарственного средства на ее основе:

Службой санитарно-эпидемиологического благополучия и общественного здоровья Республики Узбекистан утверждены Технические условия на биологически активную добавку «Флюкам» (Ts 27245830-02:2020) и Технологическая инструкция по ее производству (ТИ 64-27245830-02:2020). В результате открыта возможность производства биологически активной добавки для коррекции иммунитета в форме фильтр-пакетов в ООО «WORLD FARM BUSINESS»;

Фармакопейная статья предприятия, разработанная для сухого экстракта «Флюкам», представлена для регистрации в ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» (письмо ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» 29/01-521 от 25 ноября 2020 года, письмо Министерства здравоохранения 8н-3/280 от 15 октября 2018 года). Утверждение этого нормативного документа даст возможность расширить ассортимент отечественных иммуномодулирующих средств;

в результате проведенных доклинических исследований доказана специфическая фармакологическая активность сухого экстракта «Флюкам» (письмо Министерства здравоохранения 8н-3/280 от 15 октября 2018 года). В результате получена возможность производства безопасного лекарственного

средства с достоверным иммуномодулирующим действием.

Апробация результатов исследования. Результаты настоящего исследования обсуждены на 4 международных и 2 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 6 научных статей в научных изданиях, рекомендованных ВАК Республики Узбекистан для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора философии (PhD), в том числе 5 статей опубликованы в республиканских журналах и получен патент на изобретение Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 96 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснована актуальность и востребованность избранной темы, указано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, определены цель и задачи, объект и предмет исследования, изложены методы, научная новизна и практические результаты исследования, раскрыто научное и практическое значение полученных результатов, внедрение их в практику, приведены сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

Первая глава **«Иммунодефицитные состояния. Перспективы использования лекарственных растительных средств для коррекции иммунодефицитов»** охватывает обзор литературы, включающий общие сведения об иммунной системе и лекарственных средствах, используемых для коррекции иммунитета, лекарственных растениях, используемых в качестве иммуномодуляторов, и современных подходах к стандартизации растительных сборов.

Во второй главе **«Изучение химического состава нового растительного сбора «Флюкам»»** изложены материалы по обнаружению, идентификации и количественному определению основных групп биологически активных веществ изучаемого сбора.

На первом этапе исследования с помощью известных качественных реакций и хроматографических методов анализа определен комплекс биологически активных веществ сбора «Флюкам», обуславливающий его специфическую активность.

Показано, что вещества первичного обмена представлены моно- и полисахаридами, аминокислотами, витаминами, органическими кислотами и липидами. Из веществ вторичного обмена обнаружены флавоноиды, дубильные вещества, сапонины, стероидные соединения и минеральные вещества.

Для подтверждения полученных результатов и идентификации обнаруженных веществ проведено сравнительное хроматографическое изучение извлечений, где эти вещества были выявлены, с соответствующими извлечениями исходных компонентов сбора в присутствии достоверных образцов «свидетелей» (табл. 1).

Таблица 1

Химические компоненты растительного сбора «Флюкам»

Обнаруженные группы биологически активных веществ	Идентифицированные соединения
Моносахариды	Глюкоза, арабиноза, фруктоза, сахароза
Водорастворимые полисахариды	В продуктах гидролиза глюкоза, фруктоза, арабиноза
Витамины	Аскорбиновая кислота, каротиноиды (β -каротин)
Органические кислоты	Лимонная, яблочная, щавелевая, янтарная, фумаровая
Дубильные вещества	Конденсированные таниды
Флавоноиды	Кверцетин, гиперозид, рутин
Сапонины	Глицирризиновая кислота
Стероидные соединения	β -ситостерин

При идентификации обнаруженных веществ помимо хроматографического сравнения с аутентичными образцами в необходимых случаях проводили их выделение и анализ с использованием инструментальных физико-химических методов.

Определения аминокислотного состава сбора. Состав и количественное содержание аминокислот сбора «Флюкам» определяли методом ВЭЖХ на хроматографе «Shimadzu LC-20 prominence» (США).

Результаты определения приведены в таблице 2.

Таблица 2

Аминокислотный состав сбора «Флюкам»

№	Аминокислоты	Время удерживания, мин	Содержание, мг/г	Содержание, %
1.	Треонин*	16,159	0,00896	0,621
2.	Серин	4,392	0,06100	4,225
3.	Цистин	8,503	0,03844	2,663
4.	Метионин*	10,534	0,03604	2,497
5.	Изолейцин*	13,291	0,04046	2,803
6.	Цистеиновая кислота	9,278	0,00806	0,558
7.	Аспарагиновая кислота	1,667	0,08184	5,669
8.	Аспарагин	1,304	0,02662	1,844
9.	Лейцин*	11,864	0,00868	0,601
10.	Глутамин	2,015	0,12896	8,933
11.	Глицин	7,836	0,03472	2,405
12.	Аланин	6,339	0,00356	0,247
13.	Валин*	9,613	0,06188	4,286

14.	Глутаминовая кислота	3,117	0,39016	27,027
15.	Фенилаланин*	12,227	0,04038	2,797
16.	Тирозин	5,695	0,02674	1,852
17.	Лизин*	14,251	0,02604	1,804
18.	Гистидин*	4,902	0,05456	3,779
19.	Аргинин*	7,201	0,36652	25,389
Сумма			1,44362	100
Примечание: *незаменимые аминокислоты				

Как видно из данных, приведенных в таблице 2, специфический набор аминокислот сбора включает 19 компонентов, из которых 9 являются незаменимыми аминокислотами.

По данным литературы, одним из показателей биологической ценности смеси аминокислот является содержание суммы незаменимых аминокислот, которых должно быть 45-50%. Следовательно, найденное в исследуемом сборе количество незаменимых аминокислот (45,0%) свидетельствует о его биологической ценности.

В составе аминокислот сбора в количественном отношении преобладают глутаминовая кислота (27,0%) и аргинин (25,0%). Между тем, глутаминовая кислота относится к числу иммуноактивных аминокислот, которые помимо того, что формируют иммуноактивные белки организма, обладают способностью ускорять производство Т-лимфоцитов, усиливают выработку специфических антител. В этой связи можно заключить, что аминокислоты наряду с вторичными метаболитами – основными действующими веществами сбора «Флюкам» обуславливают его иммуномодулирующую активность.

Исследование липидов. Общие липиды выделяли путем трехкратной экстракции сбора, измельченного до размера частиц 2мм, смесью хлороформ – метанол (2:1, v/v). Затем экстракт отмывали от нелипидных компонентов 0,05% водным раствором кальция хлорида. Выход общих липидов (ОЛ) составил 0,92%.

Для определения состава ОЛ их разделяли колоночной хроматографией на силикагеле на нейтральные липиды (НЛ), гликолипиды (ГЛ) и фосфолипиды (ФЛ) последовательным элюированием хлороформом, ацетоном и метанолом.

После щелочного гидролиза каждой из этих групп полученные жирные кислоты переводили с помощью diazometana в метиловые эфиры и анализировали методом ГЖХ на хроматографе Agilent 6890N.

Как видно из данных, приведенных в таблице 3, в НЛ сбора идентифицировано 14 жирных кислот, из которых 46,21 % составляют насыщенные и немногим больше, 53,79% ненасыщенные жирные кислоты, около 40% которых приходится на долю линолевой и линоленовой кислот, относящихся к омега-6-ненасыщенным жирным кислотам. Последние вызывают опосредованный иммунный ответ путем повышения защитных

Состав жирных кислот липидов сбора «Флюкам», %Σ

№	Тривиальное название	Систематическое название (IUPAC)	Общая формула	НЛ	ГЛ	ФЛ
1.	Лауриновая кислота	Додекановая	C _{12:0}	0,49	-	-
2.	Миристиновая кислота	Тетрадекановая	C _{14:0}	1,69	3,88	6,16
3.	Пентадециловая кислота	Пентадекановая	C _{15:0}	1,27	2,55	2,84
4.	Пальмитиновая кислота	Гексадекановая	C _{16:0}	32,84	50,25	62,7
5.	Пальмитолеиновая кислота	<i>цис</i> -9-гексадеценная	C _{16:1ω7}	2,52	7,24	1,69
6.	Маргариновая кислота	Гептадекановая	C _{17:0}	-	-	1,93
7.	Стеариновая кислота	Октадекановая	C _{18:0}	6,04	8,25	14,05
8.	Олеиновая кислота	<i>цис</i> -9-октадеценная	C _{18:1ω9}	11,35	5,94	3,64
9.	Линолевая кислота	<i>цис,цис</i> -9,12-октадекатриеновая	C _{18:2ω6}	13,58	6,61	3,24
10.	Линоленовая кислота	<i>цис,цис,цис</i> -9,12, 15-октадекатриеновая	C _{18:3ω3}	26,34	15,28	2,05
11.	Арахидиновая кислота	Эйкозановая	C _{20:0}	0,96	-	-
12.	Генейкоциловая кислота	Хенейкозановая	C _{21:0}	0,55	-	-
13.	Бегеновая кислота	Докозановая	C _{22:0}	0,77	-	1,70
14.	Трикоциловая кислота	Трикозановая	C _{23:0}	0,74	-	-
15.	Лигноцериновая кислота	Тетракозановая	C _{24:0}	0,86	-	-
Сумма кислот				100	100	100
Сумма насыщенных жирных кислот				46,21	64,93	89,38
Сумма ненасыщенных жирных кислот				53,79	35,07	10,62

функций организма, снижения системной воспалительной реакции, сокращения случаев поздних инфекционных осложнений и времени лечения больных иммуносупрессией.

Исследование элементного состава. Методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой в сборе «Флюкам» установлено наличие 36 минеральных элементов (табл.4), в том числе таких важнейших, как кальций, фосфор, железо, магний, марганец, хром, цинк, молибден, медь и др., оказывающих положительное влияние на жизнедеятельность организма. Указанные элементы в определенной степени способствуют повышению фармакологи-ческой ценности данного растительного средства благодаря благоприятному сочетанию с его основными биологически активными веществами.

Таблица 4

Элементный состав сбора «Флюкам»

Элемент	Содержание, мг/кг	Элемент	Содержание, мг/кг
Li	1,30	Zn	6,30
Be	0,008	Ga	0,01
B	3,30	Ge	0,002
Na	382,0	As	0,71
Mg	3,10	Se	0,68
Al	1,90	Br	0,002
P	702,0	Rb	0,001
K	23,0	Sr	103.1
Ca	16,0	Y	0,34
Sc	0,07	Zr	1,20
Ti	29,60	Nb	0,24
V	5,50	Mo	2,00
Cr	6,00	Ag	0,05
Mn	24,0	Cd	0,02
Fe	130,0	Ba	1,41
Co	0,41	Au	0,001
Ni	1,28	Hg	0,032
Cu	0,77	Pb	0,004

После изучения химической природы и состава биологически активных веществ растительного сбора определяли их количественное содержание (табл.5).

Таким образом, в результате фитохимического исследования сбора «Флюкам» установлен комплекс биологически активных веществ, обуславливающих его специфическую активность.

Доклинические фармакологические исследования показали, что настои сбора «Флюкам», будучи практически нетоксичными и не проявляя побочного действия на организм, обладают выраженной иммуномодулирующей активностью.

Количественное содержание биологически активных веществ в сборе «Флюкам»

Биологически активные вещества	Содержание, % на абс. сухой вес
Углеводы:	
-моносахариды	2,26±0,05
-водорастворимые полисахариды	4,12±0,1
Аминокислоты	0,144±0,01
Липиды	0,92±0,06
Витамины:	
-аскорбиновая кислота, мг%	100±1,23
-каротиноиды, мг%	17,7±0,5
Органические кислоты	0,9±0,03
Флавоноиды	0,53±0,01
Дубильные вещества	18,4±0,3
Глицирризиновая кислота	0,34±0,01

Для введения сбора «Флюкам» в медицинскую практику проведены исследования, связанные с его стандартизацией. Методические подходы и экспериментальные данные по стандартизации сбора отражены в третьей главе диссертационной работы, названной «**Стандартизация растительного сбора «Флюкам»**».

Подлинность сбора устанавливали на основании изучения внешних, анатомо-диагностических признаков и определения основных действующих веществ качественными реакциями.

При изучении сбора под лупой были четко диагностированы отдельные компоненты сбора по специфическим видовым и групповым признакам.

При микроскопическом исследовании сбора все диагностические значимые анатомические признаки, присущие его компонентам, проявляются полностью, их визуализация не затруднена.

Поскольку специфическая биологическая активность сбора «Флюкам» обусловлена дубильными веществами и глицирризиновой кислотой, эти соединения были приняты в качестве основных критериев подлинности и доброкачественности сбора при химической стандартизации. Так, для качественного обнаружения дубильных веществ в сборе предложена известная цветная реакция с железоммониевыми квасцами, а для определения глицирризиновой кислоты- распределительная хроматография в тонких слоях сорбента с использованием смеси хлороформ-уксусная кислота (1:1) в качестве подвижной фазы и проявление детектированием в УФ-свете.

Количественное содержание дубильных веществ в сборе определяли официальным методом перманганометрического титрования. Исходя из результатов количественного определения дубильных веществ в пяти образцах сбора «Флюкам», норма содержания их установлена не менее 17,0% (табл.6).

Метрологические характеристики методики количественного определения дубильных веществ в сборе «Флюкам»

X	X _{ср}	n	S	S _x	f	p	t	ΔX	ΔX _{ср}	ΔE	ΔE _{ср}
18,51	18,40	5	0,2581	0,1154	4	0,05	2,776	0,7165	0,3204	3,8935	1,7412
18,48											
18,44											
18,63											
17,96											

Параллельно определяли количественное содержание дубильных веществ в сборе альтернативным спектрофотометрическим методом. При этом были получены практически одинаковые результаты.

Количественное содержание глицирризиновой кислоты определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе «LC-20 prominence» («Shimadzu Corporation», США).

Условия хроматографирования: колонка 3,0x150 мм, 4.6 мм, ZORBAX SBC18, скорость потока подвижной фазы (3,85 г ацетата аммония растворяют в 720 мл воды, добавляют 5 мл уксусной кислоты (конц.) и 280 мл ацетонитрила) установлена таким образом, чтобы время удерживания глицирризиновой кислоты составляло около 10 мин; детектирование проводили при длине волны 254 нм; температура колонки - 25°C; время анализа - 15 мин.

Результаты определения приведены на рисунках 1, 2 и в таблице 7.

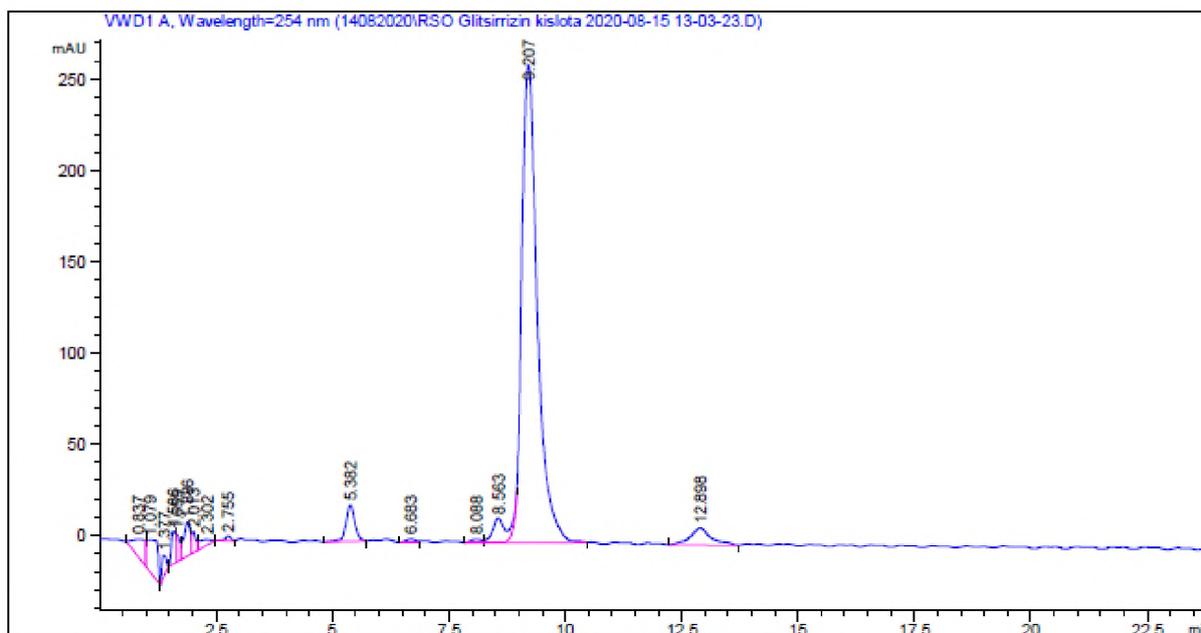


Рис. 1. Хроматограмма стандартного раствора глицирризиновой кислоты

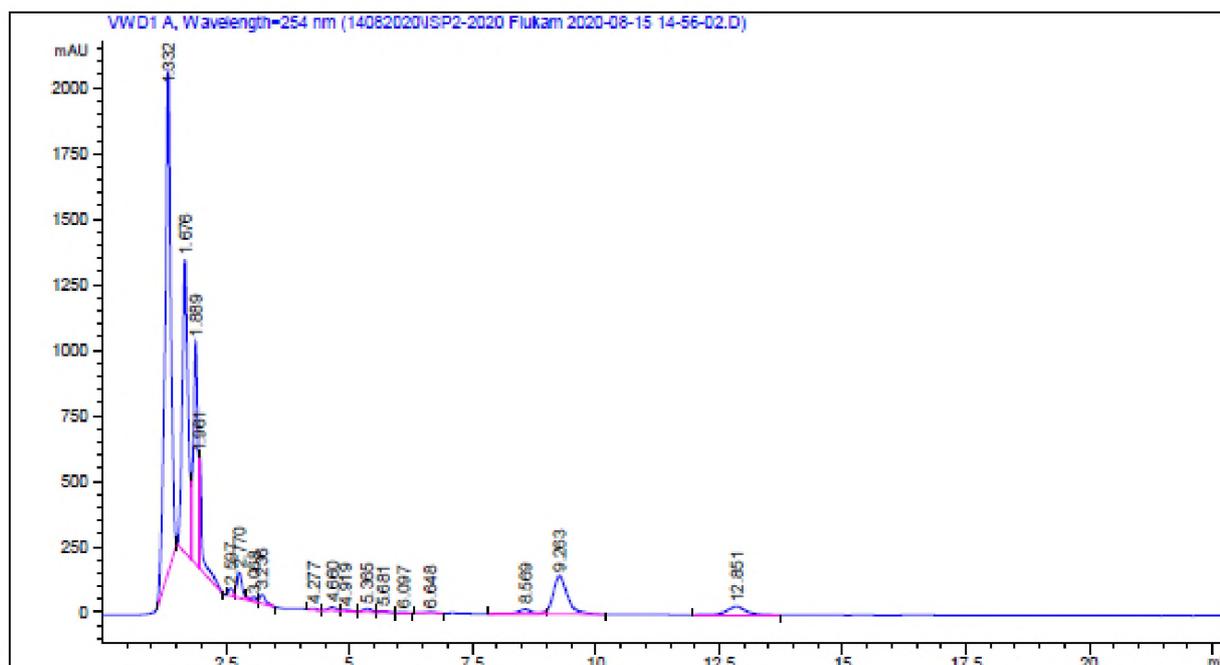


Рис. 2. Хроматограмма испытуемого раствора сбора «Флюкам»

Таблица 7

Метрологические характеристики методики количественного определения глицирризиновой кислоты в сборе «Флюкам»

X	X _{ср}	n	S	S _x	f	p	t	ΔX	ΔX _{ср}	ΔE	ΔE _{ср}
0,345	0,34	5	0,0064	0,0029	4	0,05	2,776	0,01803	0,01	5,3543	2,3945
0,329											
0,337											
0,341											
0,332											

Исходя из полученных результатов, норма содержания глицирризиновой кислоты установлена не менее 0,3%.

В результате проведенного исследования подтверждены валидационные характеристики ВЭЖХ методики количественного определения глицирризиновой кислоты в сборе «Флюкам» по критериям специфичность, линейность, правильность, прецизионность. Показано что разработанная методика являлся валидной и позволяет контролировать качество данного сбора.

Другие числовые показатели, характеризующие доброкачественность сбора, определяли по общеизвестным фармакопейным методикам.

Исходя из полученных данных, нами установлены нормы числовых показателей, нормирующих качество сбора «Флюкам» (табл.8).

Показано также, что сбор «Флюкам» в полной мере соответствует требованиям, предъявляемым к микробиологической чистоте растительного сырья.

Числовые показатели сбора «Флюкам»

Наименование показателей	Норма для сбора
Дубильных веществ, %, не менее	17,0
Глицирризиновой кислоты, %, не менее	0,3
Влажность, %, не более	8,0
Зола общей, %, не более	11,0
Зола, нерастворимой в 10% растворе хлористоводородной кислоты, %, не более	3,0
Частиц, не проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 7мм, %, не более	5,0
Частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 0,25 мм, %, не более	3,0
Органической примеси, %, не более	2,0
Минеральной примеси, %, не более	1,0

Изучение стабильности сбора «Флюкам» в условиях естественного хранения показало, что его внешние признаки и числовые показатели не изменяются существенно в течение 2,5 лет. Поэтому рекомендуется использовать сбор в течение 2 лет со времени приготовления.

Принимая во внимание современные тенденции гармонизации подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья и требований к его качеству, заложенных в нормативных документах различных стран, в числе показателей, характеризующих качество предлагаемого сбора, определено также содержание опасных контаминантов – токсичных тяжелых металлов, радионуклидов и остаточных количеств пестицидов. Результаты исследования позволили сделать вывод об экологической чистоте и возможности безопасного применения сбора «Флюкам».

Таким образом, в результате проведенных исследований получены данные для обоснования уровня требований к показателям качества нового многокомпонентного растительного сбора «Флюкам», рекомендуемого для создания лекарственных средств и биологически активных добавок иммуномодулирующего действия.

В качестве БАД для поддержания иммунитета нами предложена дозированная форма многокомпонентной композиции «Флюкам». Поскольку БАД «Флюкам» предусматривается выпускать в виде фильтр-пакетов, определены степень измельченности сырья (2 мм), обеспечивающая полноту извлечения экстрактивных и действующих веществ, оптимальное время настаивания растительного сырья в фильтр-пакетах (15 мин), оптимальное соотношение растительного сырья и экстрагента (воды) (в пределах 1:100-1:50), а также срок их годности (2 года).

На основании полученных результатов совместно с ООО «WORLD FARM BUSINESS» разработаны и утверждены стандарт организации Ts27245830-02:2020 «Биологическая активная добавка к пище «Флюкам».

Технические условия» и Технологическая инструкция по ее производству (ТИ64-27245830-02:2020). Получено разрешение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан №000984 от 26.07.2021 г. на производство и применение биологически активной добавки «Флюкам». ООО «WORLD FARM BUSINESS» дало согласие на производство промышленном масштабе БАД «Флюкам» в фильтр-пакетах.

В четвертой главе диссертационной работы «**Стандартизация сухого экстракта «Флюкам»**» представлено решение практических вопросов, связанных со стандартизацией сухого экстракта сбора «Флюкам».

Доклинические фармакологические исследования показали, что сухой экстракт «Флюкам», будучи практически нетоксичным и не оказывая побочного действия на организм, проявляет выраженное иммуномодулирующее действие. В частности, на модели преднизолоновой иммуносупрессии установлено, что по иммуномодулирующей активности сухой экстракт «Флюкам» не уступает зарубежным аналогам - препаратам «Иммунал» («Lek d.d.», Словения) и «Виусид» («Catalysis S.L.», Испания), а в ряде случаев даже превосходит их.

При этом показано, что испытуемый препарат улучшает ослабленные участки иммунной системы, не влияя на ее здоровые участки, что позволяет применять препарат длительно без негативного влияния на всю иммунную систему в целом.

На препарат получен патент Агентства по интеллектуальной собственности Республики Узбекистан №IAP 05583 «Противовоспалительное иммуномодулирующее растительное лекарственное средство».

Стандартизация сухого экстракта «Флюкам» проведена нами, как и в случае сбора, по дубильным веществам и глицирризиновой кислоте, т.е. использован метод «сквозной» стандартизации, обеспечивающей унификацию показателей, норм и методов оценки качества в ряду: исходное сырье – готовое лекарственное растительное средство. Показано также, что показатели качества сухого экстракта «Флюкам» соответствуют фармакопейным требованиям (табл.9).

По аналогим с препаратом «Виусид» для сухого экстракта «Флюкам» предлагается дозированная форма в виде порошка для приема внутрь.

На основании полученных данных совместно с ООО «SHARQ DARMON» разработан проект Фармакопейной статьи предприятия (ФСП) на сухой экстракт «Флюкам», порошок 2,0 г для приготовления раствора для приема внутрь, представленный на рассмотрение в ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» Агентства по развитию фармацевтической отрасли при МЗ РУз для получения разрешения на использование в медицинской практике (письмо №29/01-52 от 25.11.2020).

Получено согласие ООО «SHARQ DARMON» на производство сухого экстракта «Флюкам» в промышленном масштабе.

Спецификация сухого экстракта «Флюкам»

Показатели	Требования НД	Характеристика	Соответствие НД
Описание	Аморфный порошок коричневого цвета со специфическим запахом, сладковато – пряного вкуса	Аморфный порошок коричневого цвета со специфическим запахом, сладковато – пряного вкуса	Соответствует
Описание восстановленного раствора	Раствор коричневого цвета, со специфическим запахом, сладковато-пряного вкуса	Раствор коричневого цвета, со специфическим запахом, сладковато-пряного вкуса	Соответствует
Время растворения	Не более 3.0 мин	2.5 мин	Соответствует
Подлинность А. Глицирризиновая кислота Б. Дубильные вещества	Время удерживания пика исследуемого вещества должно соответствовать времени удерживания пика стандарта соответствующего наименования С раствором железа хлорида образуется черно – зеленое окрашивание	Время удерживания пика исследуемого вещества соответствует времени удерживания пика стандарта соответствующего наименования С раствором железа хлорида образуется черно – зеленое окрашивание	Соответствует Соответствует
Потеря в массе при высушивании.	Не более 5.0%	4,26 %	Соответствует
рН раствора	4,5-7,8	6,13	Соответствует
Плотность раствора	1,010-1,040 г/см ³	1,014 г/см ³	Соответствует
Сульфатная зола	Не более 0,1%	0,07%	Соответствует
Количественное содержание: -глицирризиновой кислоты; - дубильных веществ;	Не менее 1.5%	2,02%	Соответствует
	От 45.0 до 60.0 %	50,04%	Соответствует
Микробиологическая чистота	Общее число аэробных бактерий (в 1 г образца) - не более 10 ⁵ . Общее число дрожжевых и плесневых грибов (в 1 г образца) – не более 10 ⁴ . Группа Enterobacteriaceae (Escherichia coli, Salmonella), Pseudomonas aeruginosa и Staphylococcus aureus) - должна отсутствовать.	50 КОЕ/г;	Соответствует
		200 КОЕ/г;	Соответствует
		Отсутствует	Соответствует

Таким образом, в результате проведенных исследований в практику здравоохранения рекомендована новая растительная композиция «Флюкам», на основе которой разработаны биологически активная добавка к пище

«Флюкам» и одноименный сухой экстракт иммуномодулирующего действия. Освоение производства указанных растительных средств обеспечит импортозамещение и расширение экспортного потенциала республики за счет использования местного сырья, а также решение важной социальной задача государства по обеспечению населения эффективными и доступными жизненно важными лекарственными средствами, и биологически активными добавками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые проведено комплексное исследование по теоретическому и экспериментальному обоснованию системы стандартизации новой многокомпонентной растительной композиции (сбора) «Флюкам».

2. Установлено, что комплекс биологически активных веществ сбора «Флюкам», обуславливающий его иммуномодулирующую активность, представлен моно- и полисахаридами, аминокислотами, каротиноидами, органическими кислотами, дубильными веществами, флавоноидами, сапонинами, стероидными соединениями и минеральными веществами. Определены состав и количественное содержание основных групп биологически активных веществ сырья.

3. Предложена система стандартизации нового растительного сбора: разработаны методические приемы качественного и количественного определения основных действующих веществ – танидов и глицирризоновой кислоты, определены характеристики подлинности и показатели качества сбора, экспериментально обоснованы оптимальные сроки его хранения.

4. Решены практические аспекты создания и стандартизации сухого экстракта и биологически активной добавки «Флюкам» на основе одноименного многокомпонентного сбора.

5. Разработан и представлен на рассмотрение в ГУП «Государственный центр экспертизы и стандартизации лекарственных средств, медицинских изделий и медицинской техники» Агентства по развитию фармацевтической отрасли при МЗ РУз проект Фармакопейной статьи предприятия на сухой экстракт «Флюкам» для получения разрешения на применение в медицинской практике.

6. Разработаны и утверждены Технические условия на биологически активную добавку «Флюкам» и Технологическая инструкция по ее производству. Получено разрешение Министерства здравоохранения Республики Узбекистан на производство и применение биологически активной добавки «Флюкам».

**SCIENTIFIC COUNCIL DSC.04/30.12.2019.FAR.32.01
ON CONFERMENT OF SCIENTIFIC DEGREES
AT THE TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE**

TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE

ALIMKULOVA KOMILA ZOKIROVNA

**STANDARDIZATION OF A MULTICOMPONENT HERBAL
COMPOSITION OF IMMUNOMODULATORY ACTION AND A DRUG
BASED ON IT**

15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy

**DISSERTATION ABSTRACT
OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY(PhD) ON PHARMACEUTICAL SCIENCES**

Tashkent – 2021

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) on pharmaceutical sciences has been registered by the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan with registration number of B2020.4. PhD/Far23.

The dissertation has been prepared at the Tashkent pharmaceutical institute.

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) on the website of the Scientific Council (www.pharmi.uz) and on the website of "ZiyoNet" information and education portal: www.ziyo.net/uz.

Scientific supervisor: Urmanova Flyura Faridovna
doctor of pharmaceutical sciences, professor

Official opponents: Tillaeva Gulnora Urinbaevna
doctor of technical sciences, professor

Botirov Erkin Khojiakborovich
doctor of chemical sciences, professor

Leading organization: Sue «State center for expertise and standardization of medicines, medical devices and medical equipment»
Of the Agency for the development pharmaceutical industry under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan

Defense will take place on «09» December 2021 at 13⁰⁰ at the meeting of the Scientific Council (ISC.04/30.12.2019.Far 32.01) at the Tashkent pharmaceutical institute (address: 100015, Tashkent city, Mirabad district, Aibek st., 45. Tel.: (+99871) 256-37-38, fax: (+99871) 256-45-04, e-mail: info@pharmi.uz).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the Tashkent pharmaceutical institute (№ 27) Address: 100015, Tashkent city, Mirabad district, Aibek st., 45. Tel.: (+99871) 256-37-38.

Abstract of the dissertation is distributed on «04» December 2021.
(Protocol at the register № 23 dated «04» December (2021)).



K.S.Rizaev

Chairman of scientific council on conferral of scientific degrees, D.M.Sc.

Y.S. Karieva

Scientific secretary of scientific council on conferral of scientific degrees, D.Pharm.Sc., professor

H.R. Tukhtaev

Deputy chairman of scientific seminar Under scientific council on conferral of scientific degrees, D.Pharm.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of doctor of philosophy dissertation (PhD))

The aim of the study is the theoretical and experimental substantiation of the standardization system of a new multicomponent plant collection «Flukam» and a drug based on it.

The object of the study raw materials of local medicinal plants were used - St. John's wort herb, Melissa herb, roots of glycyrrhiza glabra, dandelion medicinal, burdock root, leaves of medicinal sage, walnut, stinging nettle, chamomile flowers, common oak bark, approved for use in medical practice and meeting the requirements of relevant regulatory documents.

The scientific novelty of the study is as follows:

the composition and the quantitative content of the main groups of its biologically active substances of a new multicomponent plant composition (collection), conditionally called by us «Flukam» were determined;

methods of standardization of dry extract and biologically active additive based on the proposed collection have been developed, criteria for their authenticity and good quality have been determined;

the compliance of the quality indicators of the dry extract and the biologically active additive with the requirements of international standards has been proved;

the optimal shelf life of herbal remedies obtained on the basis of collection has been determined.

Implementation of the research results. Based on the scientific results obtained during the standardization of a new multicomponent plant composition and a drug based on it:

The Sanitary and Epidemiological Welfare and Public Health Service of the Republic of Uzbekistan approved the Technical Conditions for the biologically active additive "Flukam" (Ts 27245830-02:2020) and the Technological Instructions for its production (TI 64-27245830-02:2020); As a result, the possibility of producing a biologically active additive for immunity correction in the form of filter bags in LLC "WORLD FARM BUSINESS" was opened;

The pharmacopoeia article of the enterprise developed for the dry extract "Flukam" is submitted for registration in the State Unitary Enterprise of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan "State Center for Expertise and Standardization of Medicines, Medical Devices and Medical Equipment" (letter of the State Unitary Enterprise "State Center for Expertise and Standardization of Medicines, Medical Devices and Medical Equipment" 29/01-521 dated November 25, 2020, letter of the Ministry of Health 8n-3/280 dated October 15, 2018). The approval of this regulatory document will make it possible to expand the range of domestic immunomodulating agents;

As a result of preclinical studies, the specific pharmacological activity of dry extract "Flukam" has been proven (letter of the Ministry of Health 8h-3/280 dated

October 15, 2018). As a result, the possibility of producing a safe drug with a reliable immunomodulatory effect was obtained.

The structure and scope of the dissertation. The thesis consists of an introduction, a review of the literature, three chapters of own research, conclusion, a list of references and appendix. The volume of the thesis is 96 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WOKS

I бўлим (I часть; part I)

1. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф., Юнусходжаев А.Н. Яллиғланишга қарши иммуномодулятор ўсимлик дори воситаси // Патент РУз IAP 05583, 13.04.2018 й.

2. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф., Гулямов Ш.Ш., Имамалиев Б.А. Изучение острой токсичности, местнораздражающего и алергизирующего действия сухого экстракта «Флюкам» // Фармацевтический вестник Узбекистана. -2019. -№1. –С.60-65 (15.00.00., №4).

3. Урманова Ф.Ф., Алимкулова К.З. К вопросу экологической чистоты и безопасности нового растительного сбора «Флюкам» // Фармацевтический журнал. –Ташкент, 2020. -№1. –С. 15-19 (15.00.00., №2).

4. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф., Имамалиев Б.А., Элмуродов Л.К. Изучение иммуномодулирующей активности препарата «Флюкам» // Фармацевтический журнал. –Ташкент, 2020. - №2. –С. 88-91 (15.00.00., №2).

5. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф. Разработка и валидация методики количественного определения глицирризиновой кислоты в сборе «Флюкам» // Фармацевтический вестник Узбекистана. -2020. -№2-3. –С-42-47 (15.00.00., №4).

6. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф., Имамалиев Б.А., Элмуродов Л.К., Исаджанов М.С. Изучение влияния препарата «Флюкам» на показатели формулы крови на модели иммуносупрессии // Фармацевтический журнал. –Ташкент, 2020. - №3. -С.97-106 (15.00.00., №2).

II бўлим (II часть; part II)

7. Alimkulova K. Z., Urmanova F. F., Imamaliyev B.A., Eryigitov T. R., Isadjanov M.S. Study Of Substitute Toxicity And General Pharmacological Activity Of The “Flukam” // International Journal of Advanced Science and Technology. -2020. -Vol. 29, N. 11ss. -3115-3127 p.

8. Alimkulova K. Z., Urmanova F. F. Standardization of new herbal composition "Flucam" // Solid State Technology, ISSN: 0038-111X. -2020. с.10784-10792.

9. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф., Имамалиев Б.А. Скрининговое исследование иммуномодулирующей активности растительных композиций на основе солодки голой // Материалы республиканской научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы». -Ташкент, 2019. –С.466-468.

10. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф. Определение экологической безопасности и микробиологической чистоты сухого экстракта «Флюкам» // Абу Али ибн Сино и инновации в современной фармацевтике. Сборник III

международной научно-практической конференции. –Ташкент, 2020. –С.148-151.

11. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф. Изучение минерального состава сухого экстракта «Флюкам» // Материалы международной научно-практической конференции «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы». -Ташкент, 2020. - С.193-194.

12. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф. К стандартизации нового растительного экстракта «Флюкам» // Proceedings of the 5th International Scientific and Practical Conference “Scientific horizon in the context of social crises”. -Токуо, Japan. -2020. -С.68-75.

13. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф. Минеральный состав нового растительного сбора «Флюкам» // Proceedings of the 7th International Scientific and Practical Conference “Science and practice: implementation to modern society”. -Manchester, Great Britain. -2020. -№1(31). -С.144-147.

14. Алимкулова К.З., Урманова Ф.Ф. Об иммуномодулирующих свойствах нового многокомпонентного растительного сбора «Флюкам» // Материалы республиканской научно–практической конференции “Актуальные проблемы современной медицины в условиях эпидемии”. – Термез, 2021. - С. 505-507.

Авореферат «Фармацевтика» журнали тахририяида тахрирдан ўтказилиб,
ўзбек, рус ва англиз тиллардаги матнлар ўзаро мувофиқлаштирилди.

Бичими: 84x60 ¹/₁₆. «Times New Roman» гарнитураси.
Рақамли босма усулда босилди.
Шартли босма табоғи: 2,75. Адади 100. Буюртма № 73/21.

Гувоҳнома № 851684.
«Тирограф» МЧЖ босмаҳонасида чоп этилган.
Босмаҳона манзили: 100011, Тошкент ш., Беруний кўчаси, 83-уй.